U.M.F. Gr. T. Popa-IASI
UZ -1534-
BIBLIOTECA CENTRALĂ
J64/2017

Colecția MEDICINĂ

NOTE DE CURS

CĂTĂLIN DĂNĂILĂ
ANGELA DĂSCĂLESCU ION ANTOHE

HEMATOLOGIE CLINICĂ

U.M.F. Gr. T. Popa-IASI
UZ -1534-
BIBLIOTECA CENTRALĂ

Editura „Gr. T. Popa", U. M. F. Iași
2017

ISBN - 978-606-544-470-6

J64/2017

ŞEF LUCRĂRI DR. CĂTĂLIN DĂNĂILĂ

ŞEF LUCRĂRI DR. ANGELA DĂSCĂLESCU
ASISTENT UNIVERSITAR DR. ION ANTOHE

U.M.F.-Gr. T. Popa-IASI
UZ - 1534 -
BIBLIOTECA CENTRALĂ

Hematologie clinică
Manual

BIBLIOTECA U.M.F. IASI
2149572 388

U.M.F.-Gr. T. Popa-IASI
UZ - 1534 -
BIBLIOTECA CENTRALĂ

Editura „Gr. T. Popa", U.M.F. Iaşi
2017

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
DĂNĂILĂ, CĂTĂLIN
Hematologie clinică / Cătălin Dănăilă, Angela Dăscălescu, Ion Antohe ; ref. şt.: prof. dr. Eugen Carasevici, conf. dr. Elena Albu. - Iaşi : Editura Gr.T. Popa, 2017
Conţine bibliografie
ISBN 978-606-544-470-6

I. Dăscălescu, Angela Smaranda
II. Antohe, Ion
III. Carasevici, Eugen (ref. şt.)
IV. Albu, Elena (ref. şt.)

616

Referenţi ştiinţifici:
Prof. Dr. Eugen Carasevici, U. M. F. "Grigore T. Popa" Iaşi
Conf. Dr. Elena Albu, U. M. F. "Grigore T. Popa" Iaşi

Copertă: Marius Atanasiu

Maison d'édition „Gr. T. Popa"
Universitatea de Medicină şi Farmacie Iaşi
Str. Universităţii nr. 16

Editura „Gr. T. Popa"este acreditată de CNCSIS - Consiliul Naţional al Cercetării Ştiinţifice din Învăţământul Superior

Toate drepturile asupra acestei lucrări aparţin autorilor şi Editurii „Gr. T. Popa" Iaşi. Nici o parte din acest volum nu poate fi copiată sau transmisă prin nici un mijloc, electronic sau mecanic, inclusiv fotocopiere, fără permisiunea scrisă din partea autorilor sau a editurii.

Tiparul executat la Tipografia Universităţii de Medicină şi Farmacie "Gr. T. Popa" Iaşi
str. Universităţii nr. 16, cod. 700115, Tel. 0232 301678

Cuprins

A. SANGELE / HEMATOPOIEZA 5
SÂNGELE 7
H E M A T O P O I E Z A 8
ERITROPOIEZA 15
GRANULOCITOPOIEZA 16
SERIA MONOCITO - MACROFAGICA 17
LIMFOPOIEZA 18
TROMBOCITOPOIEZA 20
B. FIZIOLOGIA SANGELUI 23
FIZIOLOGIA GLOBULULUI ROSU 25
FIZIOLOGIE LEUCOCITARA 31
HEMOSTAZA - FIZIOLOGIE 41
C. SEMEIOLOGIE HEMATOLOGICA 47
FOAIA DE OBSERVAŢIE ÎN HEMATOLOGIE 49
D. INVESTIGATII IN HEMATOLOGIE 81
HEMOGRAMA : INDICAŢII ŞI INTERPRETARE 83
EXPLORAREA HEMOSTAZEI 107
E. ANEMIILE 125
A N E M I I L E 127
CLASIFICAREA ANEMIILOR 129
F. TRANSFUZIILE 205
TRANSFUZIA DE SANGE ŞI PRODUSE SANGUINE : INDICAŢII, COMPLICAŢII. 207
G. APLAZIILE MEDULARE 227
ANEMIA APLASTICĂ (INSUFICIENŢA MEDULARĂ GLOBALĂ) 227
ANEMIA APLASTICA CONSTITUTIONALA 242
ANEMIA FANCONI 242
DYSKERATOSIS CONGENITA 242
SINDROMUL SHWACHMAN-DIAMOND (INSUFICIENŢA PANCREATICĂ ŞI PANCITOPENIE) 243
ANEMIE APLASTICĂ FAMILIALĂ 243
H. HEMOPATIILE MALIGNE 245
LEUCEMIILE ACUTE (LA) 247
I. LEUCEMIILE ACUTE LIMFOBLASTICE (LAL) 247
II. LEUCEMIILE ACUTE MIELOBLASTICE (LAM) 254
BOLI MIELOPROLIFERATIVE 264

LEUCEMIA MIELOIDĂ CRONICĂ (LMC) 264
POLIGLOBULIA PRIMITIVĂ (POLICITEMIA RUBRA VERA - PRV) 276
TROMBOCITEMIA ESENTIALA (TE) 288
OSTEOMIELOFIBROZA 296
LIMFOAMELE 306
BOALA HODGKIN (B.H.) 306
LIMFOAMELE MALIGNE NEHODGKINIENE (LMNH) 319
LEUCEMIA LIMFATICĂ CRONICĂ (LLC) 339
MIELOMUL MULTIPLU (MM) 353
SINDROAME HEMORAGIPARE 370
PURPURELE VASCULARE 370
I. PURPURA REUMATOIDA (HENOCH – SCHONLEIN) 372
II. TELANGIECTAZIA HEMORAGICĂ EREDITARĂ (BOALA RENDU-OSLER). 374
PURPURE TROMBOCITOPENICE 375
PURPURA TROMBOCITOPENICA AUTOIMUNA| IDIOPATICA (P.T.I.) 377
COAGULOPATIILE / HEMOFILIILE 382
URGENTE HEMATOLOGICE 391
SINDROMUL DE LIZĂ TUMORALĂ (SLT) 393
HIPERCALCEMIE 399
COAGULARE INTRAVASCULARĂ DISEMINATĂ 402
NEUTROPENIE FEBRILĂ 406
BIBLIOGRAFIE 413

SANGELE/ HEMATOPOIEZA

SÂNGELE

GENERALITĂŢI

Sângele reprezintă acel "mediu intern" care irigă ţesuturile şi organele, reprezintă 1/12 – 1/15 din greutatea corpului omenesc, având un rol important în procesele vitale ale organismului.

Caracteristicile fizice ale sângelui :

- este un lichid opac, lipicios cu gust metalic
- culoarea variază de la roşu-purpuriu (bogat în oxigen) la roşu închis (sărac în oxigen)
- nivelul pH al sângelui este de 7.35–7.45
- temperatura este de 38°C, uşor superioară temperaturii "normale" a corpului
- sângele reprezintă aproximativ 8% din greutatea corpului
- volumul sanguin variază între 5–6 l la bărbaţi şi 4–5 l la femei

Componentele sângelui :

- Plasma - 55%
  - apă, ioni, elemente chimice
  - gaze: O2 & CO2
  - molecule organice
    - proteine - albumină, globuline, factori ai coagulării
    - substanţe azotate neproteice – acid lactic, uree, creatinină
    - nutrienţi organici – glucoză, carbohidraţi, amino-acizi
    - anticorpi
    - hormoni
- Celulele sanguine - 45%
  - trei categorii
    - eritrocite/hematii/GR
    - leucocite/GA
    - trombocite/TR

Funcţiile sângelui

- Funcţia de ***transport/distribuţie*** :
  - oxigen de la plămâni şi substanţe nutritive de la nivelul tractului digestiv către ţesuturi
  - reziduuri metabolice de la celule către plămâni (CO2) şi rinichi pentru a fi eliminate
  - hormoni de la glandele endocrine către organele ţintă
- Funcţia de ***reglare*** – menţinerea :
  - temperaturii corespunzătoare a corpului prin absorbţia şi distribuţia căldurii
  - unui pH normal al ţesuturilor folosind sisteme tampon
  - unui volum adecvat al fluidelor din sistemul circulator
- Funcţia de ***apărare***
  - sângele previne pierderea de sânge prin **hemostază**:
    - activarea proteinelor plasmatice şi a trombocitelor

– iniţierea formării cheagului când vasul este agresat (cu apariţia unei soluţii de continuitate)

- Sângele previne infecţiile prin:
  - sintetizarea şi utilizarea de anticorpi
  - activarea proteinelor sistemului complement
  - activarea leucocitelor pentru a apăra corpul împotriva bacteriilor, virusurilor, fungilor…

Hematologia se ocupă, deci, cu studiul sângelui şi al ţesuturilor hemato-formatoare şi al patologiei legate de acestea.

Componentele fundamentale ale sistemului hematopoietic sunt:

- componenta periferică - sângele
- ţesuturile hematopoietice
  - măduva osoasă
  - splina
  - sistemul limfatic

HEMATOPOIEZA

Hematopoieza - reprezintă ansamblul mecanismelor care asigură producţia tuturor elementelor figurate sanguine pornind de la celula stem.

Celulele sanguine sunt în cea mai mare parte diferenţiate, elemente terminale şi funcţionale ale liniilor celulare medulare. Aceste celule au posibilităţi foarte reduse sau absente de sinteză proteică şi diviziuni celulare (hematiile şi trombocitele sunt celule anucleate). Durata lor de viaţă este scurtă : ore pentru neutrofile, zile pentru trombocite şi săptămâni (120 zile) pentru eritrocite. În acelaşi timp, numărul acestor celule circulante este crescut şi menţinut relativ constant.

Astfel, hematopoieza asigură o producţie celulară constantă, foarte importantă din punct de vedere cantitativ : în fiecare zi se produc aproximativ 10^{13} celule sanguine, ceea ce corespunde la peste 2 milioane de hematii/sec.

Această activitate productivă este asigurată de o mică populaţie de celule din măduva osoasă, numite celule suşe hematopoietice. Hematopoieza este controlată foarte strict pentru a asigura menţinerea constantă a numărului de celule sanguine, în ciuda variaţiilor consumurilor importante legate de contexte patologice (hemoragii, infecţii ...). Această reglare se bazează pe mecanisme celulare şi umorale (factori de creştere), care pot fi stimulatorii sau inhibitorii pentru hematopoieză.

Hematopoieza cuprinde câteva etape importante :

- autoreînnoirea celulelor stem ;
- angajarea celulelor stem în procesul de diferenţiere şi orientare spre o anumită linie celulară, trecând prin etapa celulelor progenitoare ;
- proliferarea, diferenţierea şi maturarea celulelor progenitoare, conducând spre un anumit tip celular matur.

I. DEZVOLTAREA SISTEMULUI HEMATOPOIETIC/ ORGANELE HEMATOPOIETICE

Sediul hematopoiezei variază în funcţie de etapa evolutivă. Diferitele localizări ale hematopoiezei, în evoluţie, nu sunt exclusive unele faţă de altele, pot exista suprapuneri între ele, în timp. Hematopoieza are două etape importante : hematopoieza primitivă şi hematopoieza definitivă.

Hematopoieza primitivă

Debutează în ziua a 19-a a vieţii embrionare şi durează până în săptămâna 8. La început, este mezodermică, cu formarea de insule sanguine la nivelul sacului vitelin extra-embrionar. În insulele sanguine, celulele centrale se diferenţiază în eritrocite nucleate, celulele periferice formând primele celule endoteliale.

Hematopoieza definitivă

Începe în săptămâna a 8-a. Apariţia reţelei vasculare care conectează sacul vitelin cu embrionul şi diferitele organe şi ţesuturi embrionare între ele permite trecerea celulelor stem hematopoietice din agregatele primitive în circulaţia embrionară şi, apoi, în organele hematopoietice. În cursul vieţii fetale precoce, după a şasea săptămână de gestaţie şi pe parcursul celui de-al doilea trimestru de sarcină, organele hematopoietice principale sunt : ficatul şi splina. Ulterior, organul hematopoietic principal devine măduva osoasă.

***Tabel* 1**

Vârsta individului	**Situs-ul hematopoiezei**
Embrion	Sacul vitelin, apoi ficatul
a3^a – a 7^a lună *in utero*	Splina
a 4^a – a 5^a lună *in utero*	Cavitatea medulară - predominant granulocite şi plachete
a 7^a lună	Cavitatea medulară – eritrocite
Naştere	Predominant medular; splina şi ficatul în caz de necesitate
naştere → maturitate	Numărul de situs-uri active în măduva osoasă scade, dar acestea îşi menţin capacitatea hematopoietică
Adult	Măduvă osoasă activă la nivel de craniu, coaste, stern, vertebre, pelvis, extremităţi proximale ale femurului

La naştere, cavităţile medulare ale oaselor reprezintă situsul hematopoietic major. Toate oasele sunt implicate în procesul hematopoietic. În evoluţie, procesul hematopoietic activ se restrânge la oasele scurte şi late (calota craniană, stern, coaste, oasele bazinului, vertebre). În rest, măduva osoasă roşie, hematoformatoare, este înlocuită cu măduvă grasă, galbenă. La acest nivel, predomină adipocitele. Totuşi, la acest nivel, ca şi în alte organe ale sistemului reticuloendotelial, rămân celule stem multipotente ca celule hematopoietice "în repaus".

Aceste celule îşi păstrează capacitatea de activare, pentru ca, în situaţii de necesitate sau patologice (sindroame mieloproliferative, anemii hemolitice), să dea naştere la focare hematopoietice extramedulare.

II. MĂDUVA OSOASĂ LA ADULT

Măduva osoasă (MO) este localizată în cavitatea a numeroase oase. Deşi este dispersată din punct de vedere anatomic, prezintă o unitate de organizare, datorită particularităţilor vascularizaţiei sale şi reţelei de celule stromale care stimulează hematopoieza.

La adult, MO activă reprezintă aproximativ 50 - 60% din volumul medular total şi se limitează la oasele craniului, clavicule, vertebre, stern, bazin, extremităţi proximale ale femurului şi humerusului. În oasele cu hematopoieză activă, se produce o involuţie adipoasă mai marcată în partea centrală a osului, care se accentuează cu îmbătrânirea.

Din punct histologic organizatoric, MO cuprinde mai multe compartimente :

- un cadru osos, cu celule asociate ;
- un compartiment vascular cu anumite particularităţi
- parenchimul hematopoietic;
- un micromediu sau trama conjunctivo-vasculară, care cuprinde celulele stromale şi matricea extracelulară.

Cadrul osos

Este un os spongios, compus de o întretăiere de lamele osoase sau trabecule, care delimitează mici spaţii (lojete) şi diverse celule : osteoblaşti, osteocite, osteoclaste.

- *Osteoblaştii* – celule de origine mezenchimatoasă, care secretă tropocolagen (precursor de colagen ce va forma trama osteoidă), glicoproteine, mucopolizaharide şi factori de creştere : GM-CSF, M-CSF, IL1, TGFβ.
- *Osteocite* – derivate din osteoblaste. Sunt conţinute în cavităţi numite osteoplaste ; participă la nutriţia şi activitatea osoasă.
- *Osteoclaste* – celule de origine monocitară–macrofagică cu rol în osteoliză → rezorb matricea minerală osoasă prin secreţia de acizi organici care solubilizează sărurile de calciu. Sunt stimulate de parathormon şi de factorul activator al osteoclastelor (OAF) în contexte patologice.

Viaţa osului este ciclică, cu edificări şi rezorbţii succesive (reînnoirea totală a structurii osoase se realizează în aproximativ 20 ani). Osul se prezintă iniţial sub o formă nemineralizată (os osteoid), după care mineralizarea survine în mod secundar.

Vascularizaţia osoasă

Are un rol funcţional : nutriţia, oxigenarea, producţia de factori de creştere şi eliberarea de celule mature.

Sinusurile venoase medulare sunt formate dintr-un monostrat continuu de celule endoteliale ale căror joncţiuni sunt realizate printr-o juxtapoziţie celulară cu o discretă suprapunere a marginilor citoplasmatice. Pe faţa extraluminală, celulele endoteliale sunt

acoperite de un strat discontinuu, format de celule reticulare adventiceale (fibroblaşti sau miofibroblaşti care prezintă o serie de prelungiri ce formează o reţea extinsă în spaţiul medular extravascular). Migrarea celulelor hematopoietice intra- şi extravascular, la nivel medular, se realizează la nivelul sinusurilor venoase. Un rol esenţial îl joacă celulele endoteliale care reglează trecerea intravasculară selectivă a celulelor sanguine mature, cât şi trecerea intramedulară a progenitorilor hematopoietici, în special după grefa medulară.

Parenchimul hematopoietic

Din punct de vedere structural, se caracterizează prin juxtapoziţia de diverse celule mieloide care se regăsesc în mici regiuni definite de către lamelele osoase (lojete medulare). Acestea conţin o tramă (fibre ale matricei extra-celulare şi fibroblaşti), adipocite, celule endoteliale, capilare sinusoide şi ansamblul de elemente imature şi diferenţiate ale hematopoiezei. Regiunile endostale juxtatrabeculare sunt mai bogate în precursori hematopoietici ; compartimentele de maturaţie sunt mai îndepartate. În patologie, în sindroamele mielodisaplazice, se constată focare de celule imature la distanţă de endost şi de capilarele sinusoide (ALIP).

Din punct de vedere funcţional, parenchimul hematopoietic se organizează în mai multe compartimente ierarhizate :

- celulele stem hematopoietice
- celulele progenitoare
- celulele precursoare

a) Celulele stem

Producţia permanentă a tuturor celulelor mature din sânge este asigurată de o populaţie celulară medulară, destul de restrânsă numeric, capabilă de autoreînnoire, de proliferare intensă şi diferenţiere – **celulele stem hematopoietice totipotente**. Capacitatea de autoreînnoire asigură menţinerea unei rezerve constante de celule stem. Capacitatea proliferativă crescută asigură un număr sporit de celule descendente. Totuşi, nu trebuie uitat că numărul de diviziuni succesive la care participă o celulă stem este limitat. Un studiu experimental a arătat că o celulă stem poate da naştere la peste 500.000 celule diferenţiate, după doar 19 diviziuni succesive.

Aceste celule nu pot fi identificate morfologic, cel puţin cu tehnicile actuale. Se crede că sunt celule mononucleate, cu un diametru de 6 microni şi un raport nucleo-citoplasmatic foarte ridicat. Marea majoritate sunt în repaus celular (faza G_0 a ciclului celular). Recunoaşterea celulei se face pe baza analizei fenotipului imunologic (markerii de suprafaţă exprimaţi pe membrana celulară) : **$CD34^+$, $CD38^-$, DR^-, $CD45RA^-$, c-kit^+, $CD19^-$**. Recent, au fost descoperite două antigene noi, exprimate pe membrana acestor celule : **HCA** (moleculă de adeziune) şi **HCC-1**.

Celulele hematopoietice pot trece în sângele periferic, fie în etapa de recuperare a unei neutropenii postchimioterapie, fie sub efectul stimulator al factorilor de creştere hematopoietici. Se pare că aceste celule hematopoietice sanguine ar fi mai imature decât

celulele hematopoietice medulare prelevate în fază stabilă (în afara situaţiilor menţionate mai sus).

Celula stem totipotentă, aflată în repaus (faza G_0) sub acţiunea unor factori stimulanţi, va intra în ciclul celular, conducând la diviziunea celulară. Rezultatul diviziunii va fi reprezentat de celule stem identice şi/sau celule 'angajate'. Există opinii diferite, potrivit cărora diviziunile celulare conducând la cele două tipuri de celule fiice sunt independente, în funcţie de stimul. Alţi autori sunt de părere că diviziunea celulei stem totipotente este asimetrică, conducând la două celule fiice diferite : una identică cu ea însăşi (autoreînnoirea cu menţinerea rezervei) şi una'angajată' în procesul de diferenţiere, spre anumite linii celulare. Celula angajată rezultată în prima generaţie are potenţialul de a da descendenţi aparţinând mai multor linii – celulă stem pluripotentă sau multipotentă (mieloidă sau limfoidă). În etapa următoare, procesul de diferenţiere continuă, cu restricţia la o singură linie celulară - celula stem unipotentă.

Deci, celula stem va suferi un proces de diferenţiere şi proliferare. Proliferarea va asigura un număr crescut de celule descendente. Diferenţierea sau 'angajarea' vor determina orientarea treptată spre o anumită linie celulară sanguină. Acest proces ireversibil va determina pierderea capacităţii de reînnoire şi limitarea posibilităţilor de evoluţie spre diferitele elemente mature.

b) <u>Celulele progenitoare</u>

Odată procesul de 'angajare' iniţiat, celulele intră în compartimentul celulelor progenitoare, compartiment intermediar între cel al celulelor stem şi al celulelor precursoare.

Celulele progenitoare au o ierarhie proprie, de la cele mai precoce, cu o gamă mai largă de posibilităţi evolutive, spre cele tardive, mature, cu o singură posibilitate evolutivă. Se pare că procesul de 'angajare' are o ordine bine definită a etapelor. O primă etapă este angajarea pe linia mieloidă şi respectiv limfoidă, dând celule progenitoare pluripotente (CFU-GEMM şi CFU-L).

Ulterior, procesul de diferenţiere progresează cu restrângerea paletei evolutive. Fiecare celulă progenitoare va da naştere la un repertoriu bine definit şi limitat de celule mature. Fiecare celulă progenitoare îşi păstrează capacitatea proliferativă şi va suferi multiple diviziuni la fiecare etapă, până la intrarea în compartimentul de celule precursoare. În paralel cu procesul de multiplicare, se continuă şi cel de diferenţiere, dar capacitatea de diferenţiere se restrânge de la o etapă la alta.

Aceste celule progenitoare cuprind : CFU-E (*colony forming units erytrocyte*), CFU-G (*granulocyte*), CFU-M (*monocyte/macrophage*), CFU-MK (*megakariocyte*), CFU-preB (*B lymphocytes*), CFU-DL (*dendritic/langerhans cell*). În anumite linii celulare, cum este cazul celei eritrocitare, pot exista mai multe etape de maturaţie. Toate aceste celule nu pot fi identificate morfologic la examenul microcscopic, dar pot fi identificate prin capacitatea lor de a forma colonii celulare.

c) <u>Celulele precursoare</u>

Celulele precursoare reprezintă stadiile finale ale hematopoiezei. Celulele sunt destul de diferenţiate pentru a fi identificate morfologic la examenul microscopic pe frotiuri medulare. Capacitatea de proliferare s-a redus la maximum, încât celulele mai pot suferi, în medie, patru diviziuni celulare. În paralel, celulele suferă modificări asociate cu ultimele etape de maturaţie, care conduc la elementele figurate mature. Modificările se referă la dimensiuni (dimensiunile celulei scad pe măsura diviziunilor ultime), la aspectul nuclear (nucleul îşi micşorează dimensiunile, cromatina se condensează în grămezi, nucleolii, prezenţi la început, dispar) şi la aspectul citoplasmatic (iniţial, citoplasma este intens bazofilă, datorită încărcării cu ribozomi şi sintezei proteice intense, ulterior, tinctorialitatea virează treptat spre acidofilie şi se încarcă, eventual, cu granulaţii). Acestea vor părăsi măduva, trecând în circulaţie, pentru a compensa pierderile cotidiene.

Stroma medulară (Micromediul medular)

Hematopoieza la adult are loc în medulara oaselor late şi scurte. Biopsiile osoase au arătat că celulele hematopoietice sunt localizate în compartimente situate între trabeculele osoase. La acest nivel, în afară de aceste celule hematopoietice şi structurile vasculare, mai pot fi puse în evidenţă elemente celulare non-hematopoietice şi structuri acelulare. Toate acestea, în ansamblu, alcătuiesc stroma medulară sau micromediul medular, concept important în înţelegerea mecanismului hematopoiezei.

Stroma este alcătuită din :

- ***elemente celulare*** : miofibroblaşti, adipocite, celule endoteliale, limfocite, plasmocite, macrofage ;
- ***matricea extracelulară*** : proteine fibroase (colagen I, III, IV, V, VI, fibronectină), glicoproteine (laminină, hemonectină, nascină, trombospondină) şi proteoglicani.

Stroma sau micromediul medular joacă un dublu rol esenţial în procesul de hematopoieză:

⇨ asigură fenomenul de "homing" (de localizare) la nivel medular al celulelor stem hematopoietice şi, deci, al hematopoiezei. Astfel, pe de o parte, se asigură prin anumite semnale atragerea celulelor stem cu colonizarea spaţiilor medulare osoase. Colonizare care are loc fie în contextul procesului ontogenetic, fie în cazul celulelor stem toti- sau multipotente recirculate prin sângele periferic, fie în contextul unei grefe medulare. Pe de altă parte, se asigură fixarea celulelor hematopoietice la nivel medular, limitând trecerea celulelor în sângele periferic doar pentru elementele mature. Acest fenomen implică un proces de adeziune a celulelor hematopoietice la celulele şi matricea stromală. Rezultă o interacţiune directă celulă-celulă. Celulele hematopoietice şi cele stromale exprimă, la nivel membranar, molecule de adeziune care permit fixarea intercelulară şi ancorarea la matrice.

⇨ Celulele stromale produc şi eliberează numeroşi factori de creştere şi inhibitori care modulează procesul de hematopoieză.

III. FACTORII DE CREŞTERE HEMATOPOIETICĂ

Factorii de creştere hematopoietică reprezintă un grup heterogen de citokine care stimulează celulele progenitoare ale sistemului hematopoietic. Drept consecinţă, se iniţiază procesul de diferenţiere, proliferare şi maturare a acestor celule. Marea lor majoritate sunt glicoproteine. Sunt sintetizate şi elaborate (cu excepţia eritropoietinei) de către celulele stromei medulare, dar şi din alte organe (celule endoteliale, fibroblaşti, monocite/macrofage, limfocite). Factorii de creştere se leagă specific de receptorii corespunzători de pe membrana celulelor hematopoietice. Ei joacă un rol esenţial în reglarea hematopoiezei, atât în perioadele de sănătate, cât şi pe timp de boală.

Grupul factorilor de creştere este extrem de heterogen, atât din punct de vedere al structurii chimice primare, cât şi din punct de vedere funcţional. Sunt factori de creştere capabili să acţioneze pe mai multe linii celulare (Il-3, GM-CSF), după cum există factori cu specificitate pe anumite linii celulare (EPO, G-CSF, M-CSF). Există factori care influenţează toate etapele devenirii celulelor hematopoietice, după cum există factori de creştere care acţionează punctual, fie în stadiile precoce, asigurând recrutarea celulelor aflate în repaos şi introducerea în ciclul celular cu iniţierea angajării celulare şi proliferării, fie acţionează numai în stadiile mai tardive, fiind necesare diferenţierii şi maturării celulare. Astfel, procesul de hematopoieză necesită colaborarea tuturor acestor factori pentru iniţierea şi finalizarea sa.

Factorii de creştere îşi pot exercita acţiunea reglatoare asupra hematopoiezei atât în mod endocrin (acţiunea la distanţă, pe cale sanguină), în mod paracrin (prin contiguitate, fie prin secreţie, fie prin contact membranar), cât şi în mod autocrin (fie prin secreţie, celula posedând şi receptorul membranar corespunzător, fie direct intracelular).

Mulţi dintre factorii de creştere au fost identificaţi, ca şi gena lor codantă. Gena a fost clonată şi, astfel, s-a putut trece la producţia lor pe scară largă prin inginerie genetică. Acest lucru a permis studierea lor şi studiul *in vitro* al procesului de hematopoieză, în scopul ameliorării înţelegerii lui. În acelaşi timp, a permis utilizarea lor în terapeutică : colectarea celulelor stem pentru grefă, diminuarea duratei şi profunzimii aplaziilor post-chimioterapie, post-grefă...

a) Controlul pozitiv al hematopoiezei

În ansamblu, hematopoieza este controlată în mod pozitiv de :

- factori cu acţiune sinergică, care acţionează asupra celulelor stem totipotente (capabile de autoreînnoire) – IL-3, IL-1, IL-6 ;
- factori care acţionează asupra celulelor pluripotente şi asupra progenitorilor cei mai diferenţiaţi – IL-3, IL-4, GM-CSF ;
- factori care acţionează asupra etapelor tardive ale diferenţierii şi maturării, având specificitate pentru anumite linii celulare – G-CSF, M-CSF, Epo, MK-CSF sau Tpo, IL-5.

Rolurile factorilor de creştere sunt :

1) asigurarea antrenării celulelor aflate în repaos şi intrării lor în ciclul celular proliferant, acţionând mai ales în timpul stadiului G_1;

2) activarea factorilor de transcripţie ai unor gene, cu declanşarea sintezei proteinelor codate şi, astfel, iniţierea procesului de angajare şi apoi de diferenţiere pe diferitele linii celulare;

3) asigurarea supravieţuirii celulor hematopoietice.

b) Controlul negativ (inhibitor) al hematopoiezei

Sistemul de control negativ este mai puţin bine cunoscut, dar progrese importante s-au realizat în ultimii ani. Ca şi factorii stimulanţi, factorii inhibitori acţionează la mai multe nivele ale proliferării şi diferenţierii hematopoietice. Ei nu au specificitate de linie celulară.

Factori de control negativ :

- Prostaglandinele E
- Interferonii
- Tumor Necrosis Factor alfa (TNF alfa)
- Transforming growth factor beta (TGF beta)
- Macrophage inflammatory protein (MIP1)
- Isoferitinele acide
- Lactoferina
- Tetrapeptidul acetil-N-Ser-Asp-Lys-Pro (AcSDKP, Seraspenid)
- Pentapeptidul pGlu-Glu-Asp-Cys-Lys (pEEDCK)
- Factorul plachetar 4 (PF4)

ERITROPOIEZA

Eritrocitele la adultul normal provin din celulele suşe (stem) din măduva osoasă hematopoietică care, după ce s-au diferenţiat, suferă un proces de maturaţie ce durează în jur de şase zile. Întregul proces prin care eritrocitele sunt produse la nivelul măduvei osoase se numeşte eritropoieză. Eritropoieza este un proces controlat, care asigură o producţie continuă ce înlocuieşte pierderile fiziologice, menţinând constantă masa eritrocitară totală din organism. Eritropoieza implică un număr şi o varietate mare de celule în diferite etape de maturaţie, începând de la prima celulă stem angajată spre linia eritrocitară până la eritrocitul matur. Această întreagă masă de celule eritroide a fost denumită eritron. Acest concept priveşte masa eritroidă ca o unitate tisulară funcţională.

Eritropoieza cuprinde mai multe etape. Celula stem multipotentă sub acţiunea unor stimuli se angajează spre linia eritroidă. Celulele rezultate vor suferi iniţial un proces de proliferare şi diferenţiere în etape, iar ulterior un proces de maturaţie. Celulele cele mai precoce ale liniei roşii formează compartimentul celulelor progenitoare, cuprinzînd BFU-E (burst-forming unit-erythroid) şi CFU-E (colony-forming unit-erythroid). Aceste celule nu pot fi recunoscute din punct de vedere morfologic, dar pot fi identificate funcţional prin capacitatea lor de a forma *in vitro* colonii eritroblastice. Procesul se continuă cu compartimentul celulelor precursoare ce cuprinde în ordine maturativă : proeritroblastul, eritroblastul bazofil, eritroblastul policromatofil, eritroblastul acidofil, pentru a ajunge la reticulocit şi, în final, la eritrocitul matur.

Eritrocitul, celula matură circulantă, are aspect de disc biconcav cu diametrul de 7-8 µm, reprezentând forma cea mai avantajoasă din punct de vedere al raportului suprafaţă/volum, ce asigură o încărcare optimă cu hemoglobină. Pe frotiu apare ca o celulă rotundă, fără nucleu, cu citoplasma roşie-roz, mai palidă central şi mai intensă periferic. Durata medie de viaţă este de 120 zile. Funcţia principală este de transport al oxigenului de la plămâni la ţesuturi. De aceea interiorul celulei conţine 90% hemoglobină şi 10% apă.

Eritropoieza, ca întreaga hematopoieză, se află sub controlul factorilor de creştere, în principal sub controlul **eritropoietinei** cu specificitate aproape exclusivă pentru linia roşie. Eritropoietina este un hormon glicoproteic produs în principal la nivel renal, pare-se de celulele interstiţiale din apropierea tubului contort distal. Producţia hepatică, esenţială la făt, reprezintă doar 10-15% la adult. Sinteza eritropoietinei se află sub controlul presiunii O_2 la nivel tisular.

GRANULOCITOPOIEZA

Granulocitele din sânge sunt celule care, aşa cum arată şi numele, conţin în citoplasmă numeroase granulaţii. În funcţie de afinitatea tinctorială, se disting trei tipuri de granulaţii, care dau şi numele celor trei subpopulaţii de granulocite : neutrofile, eozinofile şi bazofile. Granulocitele neutrofile sunt cele mai numeroase.

Granulocitele se formează în măduva osoasă hematopoietică. Ele iau naştere, ca şi seria eritrocitară şi megacariocitară, dintr-o celulă suşă pluripotentă, care se diferenţiază spre progenitorul specific liniei. Procesul de maturaţie la nivel medular durează aproximativ 7 zile şi cuprinde în jur de 4-5 mitoze. Procesul de diferenţiere şi maturare se traduce morfologic prin schimbări de formă ale nucleului şi o maturare progresivă a citoplasmei, cu pierderea bazofiliei şi apariţia de granulaţii specifice.

La nivel medular, în cadrul procesului de maturare, pot fi diferenţiate mai multe etape pe linia celulelor precursoare : mieloblast, promielocit, mielocit, metamielocit, granulocit nesegmentat şi granulocitul matur sau polimorfonuclearul (PN).

Neutrofilele constituie 40-70% din totalitatea globulelor din sânge. Linia lor de maturaţie constituie populaţia majoritară din măduvă. Raportul granulocite/eritroblaşti este de aproximativ 3/1.

Aspectul pe frotiu este al unei celule rotunde cu diametrul de 12-14 microni. Nucleul este format din segmente (blocuri) cromatiniene (2-5) reunite prin filamente fine. În sângele periferic, 50% din neutrofilele mature au 3 lobi şi sub 5% au 5 lobi sau peste. Citoplasma este roz, plină cu numeroase granulaţii neutrofile. 70-80% dintre granulaţii sunt neutrofile, iar restul sunt azurofile.

SERIA MONOCITO - MACROFAGICĂ

Studiul modern al fagocitelor la mamifere a fost început în secolul trecut, de către Metchnikoff. Studiul ontogeniei, cineticii şi funcţiei celulelor fagocitante la animale a determinat crearea conceptului de sistem monocitic-macrofagic sau sistem fagocitic mononuclear. Acest sistem cuprinde monoblaştii şi promonocitele din măduva osoasă, monocitele sanguine şi macrofagele libere şi fixate în ţesuturi.

Sistemul fagocitic mononuclear cuprinde monoblastul, promonocitul, monocitul şi macrofagul. Îşi are originea, ca şi restul elementelor figurate sanguine, la nivelul măduvei osoase hematoformatoare.

Producţia debutează prin **progenitori foarte nediferenţiaţi = CFU-GEMM** (Colony Forming Unit Granulocitar, Eritroblastic, Megacariocitar si Monocitar), care, sub influenţa diverselor citokine (SCF, FLT3-L, GM-CSF, IL-3), vor da naştere la progenitori diferenţiaţi.

Aceşti **progenitori mieloizi mai diferenţiaţi (CFU-GM)** (Granulocitari şi monocitari) proliferează în prezenţa IL-3 şi GM-CSF (Granulocyte Monocyte - CSF). Apoi, prezenţa suplimentară de G-CSF stimulează orientarea spre CFU-G (care vor da naştere la linia granulocitară neutrofilă), în timp ce prezenţa suplimentară de **M-CSF** determină diferenţierea spre progenitorii **CFU-M,** apoi spre precursorii monocitari – monoblastul şi promonocitul. In final, rezultă monocitul.

Timpul de diferentiere al CFU-GEMM în monocite medulare = **aprox 4-5 zile**.

Macrofagul constituie elementul central în reglarea monocitopoiezei. Macrofagul activat de diverşi stimuli (imuni, endotoxina) este capabil să producă M-CSF şi GM-CSF ce vor stimula monocitopoieza. În acelaşi timp, macrofagul produce citokine (TNF, IL-1) care vor stimula celulele endoteliale şi mezenchimale să producă M-CSF şi GM-CSF.

În acelaşi timp, GM-CSF interacţionează cu macrofagul matur şi îl activează crescându-i potenţialul citotoxic. Limfocitul T activat secretă GM-CSF şi IL-3 care vor acţiona local şi vor regla proliferarea şi activarea macrofagelor în focar.

Monocitele părăsesc măduva la scurt timp după ultima diviziune celulară, ceea ce explică faptul că, spre deosebire de granulocite, nu există o rezervă medulară de monocite. Ele trec în circuitul sanguin. La adultul normal, monocitele reprezintă 1-6% din populaţia leucocitară.

Monocitul medular rămâne în măduvă o zi, după care migrează în sângele periferic, unde circulă 1-4 zile înainte de a ieşi din capilare (prin diapedeza activă), pentru a se localiza în ţesuturile din organism. Se transformă în histiocit cu funcţie macrofagică şi imună. Durata de viaţă este de la 3 luni la 3 ani.

Spre deosebire de polinuclearele neutrofile, monocitele şi histiocitele sunt incapabile să prolifereze (chiar dacă slab), dar mai ales sa sintetizeze numeroase componente (citokine, altele..).

Potrivit localizării lor tisulare, aspectul lor diferă şi au denumiri diferite:

- ficat = celule Küpffer
- măduva osoasă = macrofage medulare
- rinichi = celule mezangiale intraglomerulare

⇨ creier = celulele microgliei
⇨ seroase = macrofagele seroaselor
⇨ plămân = macrofage alveolare
⇨ splina = macrofage sinusale
⇨ ganglioni = macrofage sinusale (în sinusuri), celule interdigitate (regiunile T), celule foliculaire dendritice (centrii germinativi)
⇨ os = osteoclaste multinucleate

Funcţii îndeplinite :

- fagocitoza
- iniţierea răspunsului imun prin calitatea de celulă prezentatoare de antigene
- răspunsul inflamator
- coagulare

LIMFOPOIEZA

Limfoctele reprezintă o populaţie heterogenă de celule care diferă mult între ele din punct de vedere al originii, căii de maturare, duratei de viaţă, teritoriilor preferenţiale de populare în organele limfoide, markerilor de suprafaţă, funcţiei. Diferite aspecte morfologice ale acestor celule precum : mărimea, granulaţiile, raportul nucleo-citoplasmatic prezintă diferenţe între o subpopulaţie limfocitară şi alta. Totuşi, diferenţele sunt greu de sesizat pentru a diferenţia între ele aceste subpopulaţii doar pe criterii morfologice.

Cea mai importantă metodă de diferenţiere a subpopulaţiilor limfocitare între ele se bazează pe identificarea unor structuri proteice, dintre care unele sunt glicoproteine, exprimate la nivelul membranei celulare. Acestea constituie markeri celulari de suprafaţă şi au fost denumite antigene *"cluster of differentiation" (CD)*. Aceste antigene pot fi prezente pe mai multe linii celulare, unele pot avea specificitate pentru o anumită linie celulară, iar altele pot avea specificitate pentru o anumită etapă din evoluţia (maturarea) liniei celulare respective. Identificarea lor, cu ajutorul anticorpilor monoclonali, permite identificarea liniei şi etapei evolutive a celulei respective. Faptul este cu atât mai important pentru identificarea originii celulare a unei celule maligne.

În ceea ce priveşte markerii limfocitari, aceştia au fost clasificaţi în trei tipuri :

- *markeri de diferenţiere B sau T* - cu specificitate pentru fiecare linie limfocitară în parte ;
- *markeri de maturaţie* – structuri care apar în anumite etape ale devenirii celulei respective, putând dispărea la etapele următoare ;
- *markeri de activare* – antigene care apar în cursul ciclului celular, indicând o proliferare limfocitară.

Limfocitele, ca şi restul celulelor sanguine, derivă din celula stem hematopoietică totipotentă, prin intermediul unei celule progenitoare primitive, angajate spre linia limfoidă. Diferenţierea în acest sens depinde de o serie de factori celulari şi umorali (micromediul), ca şi de alte celule sanguine specializate, provenite din celula stem.

După angajarea pe linia limfoidă, celulele progenitoare continuă să prolifereze, să se diferenţieze şi să se matureze, conducând la două clase mari de limfocite : limfocitele B şi limfocitele T. Capacitatea lor funcţională va asigura cooperarea, constituind elementele esenţiale ale sistemului imunitar. Cele două clase, deşi prea puţin distincte morfologic, au funcţii diferite şi, în acelaşi timp, exprimă la nivel membranar o serie de structuri antigenice care le va asigura funcţia şi recunoaşterea (imunofenotipaj). Cele mai importante sunt două tipuri de molecule cu funcţie de receptor : imunglobulina mebranară exprimată de limfocitul B şi receptorul T (TCR – T cell receptor, cu molecula asociată CD3) exprimat de limfocitul T. Relativ recent, a fost identificată o a treia subpopulaţie limfocitară, limfoctele non-B, non-T sau limfocitele null.

Spre deosebire de eritrocite, granulocite şi trombocite, limfocitul matur nu constituie elementul terminal al liniei sale, având posibilitatea ca, sub o stimulare corespunzătoare, să-şi recapete capacităţile proliferative cu reevoluţie spre stadiul de limfoblast.

*** Scurt rezumat al diferenţierii limfocitare**

a) Diferenţierea limfocitelor B

- Limfocitele B se dezvoltă plecând de la o celulă suşă hematopoietică situată în măduva osoasă.
- Celula pro-B este celula cap de serie şi exprimă markeri B. In acest stadiu, începe procesul de rearanjare a genei codante pentru lanţurile grele ale imunglobulinelor (IgH), a căror expresie este intra-citoplasmatică, în stadiul următor de limfocit pre-B.
- Rearanjamentul locusului codant pentru lanţurile uşoare conduce la expresia membranară a unei IgM complete şi la trecerea în stadiul de limfocit B matur. Expresia membranară a IgD este posibilă printr-un episaj alternativ. Limfocitul exprimă, în acest moment, markerii B : CD19 şi CD20.
- Limfocitul B naiv, care nu a întâlnit încă antigenul, ajunge în sângele periferic, apoi în organele limfoide secundare, la nivelul foliculilor primari, în contact cu celulele dendritice foliculare. O subpopulaţie dintre aceste limfocite B exprimă CD5 (regăsite în leucemia limfatică cronică).
- In cazul întâlnirii cu antigenul, limfocitul B proliferează şi se diferenţiază în cadrul unei structuri care se numeşte "centru germinativ". La periferia centrului germinativ, se constituie zona de manta, unde sunt excluse limfocitele B care nu au specificitate de antigen. Rezultă astfel foliculul secundar care este format din centrul germinativ şi manta.
- Maturaţia limfocitului B în contact cu antigenul se însoţeşte de :
    - mutaţii somatice ale genelor codante pentru lanţul greu şi lanţul uşor al Ig, ducând la o creştere a afinităţii acestei Ig pentru antigenul corespunzator;
    - producţia de celule B cu memorie şi plasmocite dedicate secreţiei de anticorpi ;
    - un switch izotipic survenind în mod esenţial în celulele plasmocitare fiice de la IgM către IgG, IgA sau, mai rar, IgE.
- Limfocitele cu memorie sunt situate, în principal, în zona marginală (ganglionară periferică sau mezenterică, splenică) şi exprimă IgG în concentraţie mare pe suprafaţa lor.

- Plasmocitele se întorc în măduva osoasă, în principal, şi spre mucoase pentru a secreta imunglobulinele (IgG, IgA, IgE).

b) Diferenţierea limfocitelor T

- Limfocitul T se diferenţiază tot din celulele suşe hematopoietice.
- Precursorii T migrează din măduvă sau ficatul fetal către timus (unde iau denumirea de timocite) unde are loc, iniţial, rearanjamentul locusului codant pentru lanţurile γşi δ ale receptorului T (TCR).
- În caz de eşec al acestui rearanjament, timocitul îşi rearanjează locusul codant pentru lanţurile α şi β ale TCR.
- Timocitele suferă apoi :
  - o selecţie pozitivă care conduce la expresia CD4 (T auxiliar) sau CD8 (T citotoxic).
  - o selecţie negativă care elimină limfocitele autoreactive.
- Limfocitele T care părăsesc timusul au, în marea lor majoritate, un TCR β, doar o minoritate exprimând un TCRδ. Ele exprimă, în marea lor majoritate, antigenele CD2, CD5 şi CD7 şi sunt fie CD4+, fie CD8+, rareori CD4-CD8-.

c) Diferenţierea limfocitelor natural-killer (NK)

- Celulele NK au o diferenţiere apropiată de cea a celulelor T, dar nu exprimă TCR.
- Funcţia lor este apropiată de cea a limfocitelor T citotoxice. In acest scop, ele pot exprima markeri T, precum CD2, CD5, CD7 sau CD8, ca şi CD3 intra-citoplasmatic.
- Exprimă şi alţi markeri mai specifici, precum CD16, le CD56 şi CD57.

TROMBOCITOPOIEZA

Trombocitele reprezintă termenul final de maturare al liniei megakariocitare. Elementele acestei linii pot fi izolate din sânge şi măduva osoasă prin centrifugare sub gradient (ex. Ficoll-hypaque), triaj celular cu anticorpi monoclonali (Ac mo) şi cultivare pe medii semisolide, în prezenţa unui ser de la un pacient cu insuficienţă medulară cantitativă : serurile de la astfel de pacienţi sunt bogate în factori de creştere.

Linia megakariocitară provine, ca şi celelalte linii, din celulele stem hematopoietice (CSH). Linia începe în momentul în care celula hematopoietică pluripotentă se transformă într-o celulă capabilă să prolifereze şi să dea o colonie de megakariocite *in vitro* - *progenitorul megacariocitar*. După un număr de mitoze în compartimentul celulelor progenitoare, celula ajunge într-un stadiu de tranziţie, în compartimentul celulelor precursoare, în care celulele nu se mai divid, ele suferind doar *endomitoze*.

Compartimentul celulelor progenitoare este heterogen, cu o ierarhie precisă, constituind o linie continuă de celule. Două - trei tipuri de progenitori au fost identificate, fie pe baza studiului tipului de colonii obţinut *in vitro* (cu cât mărimea coloniei este mai mare sau cu cât timpul său de apariţie în cultură este mai lung, cu atât progenitorul din care a provenit colonia este mai primitiv), fie pe baza studiului ploidiei megakariocitelor ce compun o colonie izolată. Progenitorii megakariocitari se împart schematic în trei tipuri : ***BFU-MK (Burst Forming***

Units – Megakaryocyte), CFU-MK (Colony Forming Units Megacaryocyte), LD-CFU-MK (Low density).

Odată intrate în compartimentul precursorilor, sau de maturaţie, celulele suferă un proces de maturaţie atât nuclear, cât şi citoplasmatic. Din acest moment celula nu se mai divide. Nucleul îşi dublează succesiv conţinutul în ADN fără a se divide (endomitoză). Astfel celula îşi creşte ploidia de la 2N până la 64-128N. La om, majoritatea megakariocitelor sunt 16N (50%). Pe măsură ce îşi creşte ploidia nucleul rotund devine ancoşat apoi polilobulat şi îşi condensează cromatina. În paralel are loc o maturare a citoplasmei cu formarea de granule: dense, alfa şi lizozomale, apariţia unor antigene plachetare, formarea memebranelor de demarcaţie ale sistemului de membrane ce comunică cu exteriorul. Ele provin din invaginarea membranei plasmatice. Au rolul de a constitui o rezervă de membrane a megakariocitelor. Astfel, înainte de a elibera trombocitele, megakariocitul se alungeşte luând forma unei caracatiţe, alungire ce se face datorită rezervei de membrane şi derulării ei cu ajutorul microtubilor. La intervale regulate apar constricţii unde se concentrează microtubii şi microfilamentele care vor rupe citoplasma şi vor forma trombocitele.

Megakariopoieza are loc la nivelul măduvii osoase unde megakariocitele se regăsesc preferenţial la nivelul subendoteliului sinusoidelor. Fiecare megakariocit dă naştere la 1.000-8.000 de plachete. Se discută tot mai mult rolul plămânului ca situs principal de producere a plachetelor (din megakariocite ce au părăsit măduva prin pasaj transendotelial, şi au fost captate la acest nivel). În ceea ce priveşte mecanismul de producere a plachetelor există 4 teorii :

- o plachetele ar înmuguri la suprafaţa megakariocitelor - foarte puţin probabil
- o teritoriile plachetare ar fi predeterminate ca mărime şi formă în interiorul megakariocitelor ;
- o megakariocitele s-ar fragmenta în plămân sub efectul forţelor fizice ale curentului sanguin ;
- o teoria cea mai acceptată este aceea potrivit căreia megakariocitele ar trimite prelungiri lungi (pseudopode) care se fragmentează în plachete. Fragmentarea ar avea loc în circuitul sanghin unde a fost trimis pseudopodul (prin endoteliul vascular).
- o Reglarea producţiei de plachete se realizează prin intermediul a trei parametri independenţi :
  - numărul de megakariocite (mecanismul de proliferare), volumul mgakariocitelor;
  - talia megakariocitelor care depinde de ploidia lor. Creşterea ploidiei rezultă prin endomitoză, însoţită de creşterea volumului celular şi citoplamatic.
  - maturarea citoplasmatică (cu dezvoltarea reţelei membranare intracitoplasmatice – membrane de demarcaţie – care vor servi ca membrate citoplasmatice pentru trombocite).

Reglarea producţiei plachetare (megakariopoieza), conform ipotezi dublei reglări survine la două niveluri celulare distincte : o primă citokină (**MK-CSF**) acţionează numai asupra etapelor precoce ale diferenţierii (celulele progenitoare), şi un factor tardiv de diferenţiere (trombopoietina) ce influenţează procesul de maturare al megakariocitelor şi ploidizarea lor.

Cercetările au arătat că IL-3 şi GM-CSF joacă rolul de MK-CSF fiind capabile să inducă formarea de colonii megakariocitare prin acţiunea concomitentă asupra BFU-MK şi CFU-MK. Trombopoietina acţionează asupra etapelor ulterioare alături de citokinele din familia IL-6. Pe de altă parte, megakariopoieza este inhibată în mod fiziologic de factori inhibitori eliberaţi de plachetele activate: TGF-beta, PF4, beta tromboglobulina.

Trombopoietina (**TPO**) este hormonul fiziologic care reglează producţia trombocitară. Studiile au demonstrat faptul că, pe lângă acţiunea sa preponderantă asupra liniei megakariocitare, TPO ar juca un rol principal în etapele precoce ale hematopoiezei.

Gena TPO umană este situată pe cromozomul 3, în 3q27-28.. Gena este exprimatăîn mod esenţial, în ficat, rinichi dar şi în măduva osoasă, de fibroblastele medulare în culturăşi de celulele endoteliale din cordonul ombilical.

In vitro, TPO este responsabilă de :

- creşterea taliei şi ploidiei (deobicei peste 64 N) a megakariocitelor (MK) în cultură;
- inducerea formării de colonii megacariocitare de talie mică, comportând 3 - 5 MK pe colonie;
- inducerea de markeri de diferenţiere megakariocitară pe celulele $CD34^{+}$: glicoproteina GP Ib et glicoproteina GP IIb/IIIa.

FIZIOLOGIA SÂNGELUI

FIZIOLOGIA GLOBULULUI ROŞU

GENERALITĂŢI

- Eritrocitul este o celulă anucleată al cărei constituent principal este hemoglobina care permite transportul oxigenului (O2) de la plămâni către ţesuturi.
- Eritrocitul este format în măduva osoasă, în cadrul procesului de hematopoieză (eritropoieză), sub formă de reticulocit care se transformă în eritrocit şi este eliberat în sângele circulant unde supravieţuieste, în medie 110-120 zile.
- Eritrocitul este distrus prin fagocitoza intratisulară (hemoliza fiziologică). Un nivel stabil de Hb semnifică existenţa unui mecanism reglator care menţine un echilibru între hemoliza fiziologică şi eritropoieză. Această înnoire zilnică a eritrocitelor vizează aproximativ 1/120 din masa globulară totală.

ERITROPOIEZA

Este un fenomen adaptativ, măduva putând creşte producţia eritrocitară de până la 8-10 ori producţia de bază. Durata sa este de aproximativ o săptămână. Cinetica eritropoiezei poate fi studiată prin intermediul studiului metabolismului fierului 59. Eritropoieza implică un număr şi o varietate mare de celule în diferite etape de maturaţie, începând de la prima celulă stem angajată spre linia eritrocitară şi până la eritrocitul matur. Această întreagă masă de celule eritroide a fost denumită eritron. Acest concept priveşte masa eritroidă ca o unitate tisulară funcţională.

a) Compartimentul celulelor suşe şi precursoare

– celulele suşe sunt definite ca celule capabile de autoreînnoire şi de diferenţiere.

– aceste celule nu sunt identificabile morfologic (au aspect de celule imature : blaşti), dar pot fi identificate prin capacitatea de a forma colonii *in vivo* şi *in vitro*.

– Se disting :

* Celulele suşe mieloide multipotente (CFU-S), aflate la originea tuturor liniilor celulare mieloide.

* Celulele suşe determinate (comitted), adica angajate către o linie celulară - progenitoare. Referitor la linia eritroblastică, aceste celule sunt, în mod succesiv, BFU-E şi CFU-E.

b) Compartimentul celulelor precursoare

– Celulele liniei eritroblastice identificabile pe un frotiu medular (unde reprezintă 10 - 30 % din elemente) cuprind, în mod succesiv : proeritroblastul, eritroblastul bazofil, eritroblastul policromatofil, eritroblastul acidofil.

c) Eritropoieza este caracterizată prin două procese paralele

– ***Multiplicarea celulară*** (mitoza) şi sinteza de ADN. Ea se opreşte la stadiul de eritroblast acidofil . Fiecare mitoză se traduce prin diminuarea cantităţii de citoplasmă până la expulzia nucleului de către eritroblastul acidofil, dând naştere la reticulocit.

– ***Sinteza proteică,*** axată în principal pe producţia de hemoglobină, a cărei concentraţie intracelulară creşte progresiv odată cu maturaţia eritroidă. Când această concentraţie atinge un

prag suficient, sinteza de ADN se opreşte. Un defect în producţia de hemoglobină va antrena un exces de mitoze şi o diminuare a taliei eritrocitelor rezultante.

d) Reticulocitul

– Este o celulă anucleată care trece în sânge, unde este identificat pe frotiu cu ajutorul coloraţiilor supravitale (cu albastru de cresyl...). Numărarea reticulocitelor (normal 20.000 - 80.000/mm^3) este o reflectare a capacităţii de producţie medulară. In 48 ore, se transformă în eritrocit « matur ».

– Fragmente nucleare pot persista în reticulocit şi sunt eliminate în mod fiziologic de către splină. În caz de splenectomie sau asplenism, aceste fragmente sunt vizibile în eritrocite şi denumite "corpi Jolly".

REGLAREA ERITROPIEZEI

- Eritropoieza, ca întreaga hematopoieză, se află sub controlul factorilor de creştere, în principal sub controlul **eritropoietinei** cu specificitate aproape exclusivă pentru linia roşie.
- Eritropoietina (EPO) este o glicoproteină constituită din 166 aminoacizi, cu o greutate moleculară de 30.400 Daltoni. Gena codantă se află situată pe cromozomul 7(7q11-q22). Există într-o o singură copie, conţinută într-o regiune de 5,4 kb la nivelul ADN genomic.
- Rinichiul este principalul organ producător al EPO la adult,mai precis, de către celulele interstiţiale din apropierea tubului contort distal. Sinteza şi secreţia EPO se realizează potrivit legii "totul sau nimic". Hipoxemia, factorul stimulant principal, creşte producţia prin recrutarea de noi celule capabile să sintetizeze ARNm al EPO şi nu prin creşterea sintezei la nivelul celulelor aflate deja în activitate. Sub acţiunea hipoxemiei, numărul de celule producătoare de EPO creşte în mod exponenţial. Astfel, în caz de anemie severă secundară unor hemoragii acute, producţia de EPO poate creşte până la de 200 ori nivelul de bază.
- Ficatul reprezintă organul principal de producere a EPO la făt. La adult, asigură producerea a 10-15% din producţia totală. Sinteza are loc în hepatocitele din vecinătatea venelor centrolobulare, unde presiunea oxigenului este cea mai scăzută, şi la nivelul celulelor interstiţiale.
- Producţia este funcţie de presiunea parţială a oxigenului (la nivel renal) şi este reglată la nivelul genei şi nu este influenţată de nivelul plasmatic al EPO, ca şi clearance-ul. EPO este produsă şi eliberată constant, în funcţie de necesităţi. Nu există rezerve de factor preformat.
- Producţia de EPO este controlată în mod strict, atât în condiţii normale, cât şi în condiţii de anemie sau hipoxie, pentru a evita variaţiile brutale şi prelungite cu supraîncărcare globulară eritrocitară.
- EPO posedă o mare specificitate, aproape exclusivă pentru linia eritrocitară, datorită prezenţei exclusive a unor receptori cu înaltă specificitate şi afinitate la nivelul progenitorilor eritrocitari.

FACTORI NECESARI ERITROPIEZEI

a. Fierul utilizat în sinteza Hb este cedat eritroblastului în principal de către transferină, sau siderofilină, proteina sa de transport plasmatic. Fierul are trei origini :

* sursa principală este hemoliza fiziologică a eritrocitelor îmbătrânite de către celulele fagocitare (circuit de reutilizare);

* rezervele tisulare (în principal în hepatocite sub formă de feritină);

* alimentaţie (absorbţia intestinală la nivelul duodenului şi jejunului proximal).

b.Vitamina B12 şi acidul folic sunt indispensabile sintezei ADN şi, deci, mitozelor. Aceste două vitamine sunt aduse de către alimentaţie şi absorbite în tubul digestiv la nivel diferit: jejunul proximal pentru folaţi, ileonul distal pentru vitamina B12 (care necesită asocierea cu factorul intrinsec secretat de celulele parietale fundice din stomac). Rezervele tisulare (hepatice) sunt importante pentru vitamina B12 (suficiente pentru 3-4 ani) şi reduse pentru folaţi (3-4 luni).

c. Alţi factori necesari sunt : cobalt, cupru, zinc, acizi aminaţi, vitamina B6 (cofactor al ALA sintetazei), vitamina C, vitamina E, vitamina B2.

ERITROCITUL

În organismul uman, zilnic se produc aproximativ 2 x 10^{11} eritrocite care le înlocuiesc pe cele îmbătrânite în scopul de a menţine constantă masa eritrocitară circulantă. Eritrocitele părăsesc măduva ca reticulocite, trec în circulaţie unde îşi incheie procesul de maturaţie şi supravieţuiesc în jur de 120 zile, îndeplinindu-şi rolul principal de transportor al oxigenului către ţesuturi. Pentru a-şi asigura supravieţuirea, eritrocitul trebuie să-şi menţină integritatea membranei şi a conţinutului citoplasmatic, protejându-le de diferte agresiuni fizice şi chimice prezente în sistemul circulator.

Membrana eritrocitară

Membrana eritrocitară are, în microscopia electronică, o structură trilaminară. Din punct de vedere al compoziţiei chimice, ea conţine lipide (40%), proteine (52%) şi carbohidraţi (8%). Aranjamentul spaţial este acela al unui dublu strat fosfolipidic, în care sunt localizate proteine şi fosfolipide în poziţii cheie. Interacţiunea între aceste componente contribuie la realizarea structurii şi fluidităţii membranei.

Funcţiile principale ale membranei eritrocitare sunt :

- menţinerea formei şi deformabiltăţii celulare
- menţinerea balanţei osmotice între mediul extracelular şi citoplasmatic
- asigură suport scheletal pentru antigenele de suprafaţă
- asigură transportul de ioni şi gaze între citoplasmă şi mediul extracelular.

Hemoglobina

Hemoglobina este constituentul principal al eritrocitului, având rol fundamental în transportul oxigenului în organism. Concentraţia sa medie în eritrocite este de 34 g/dl. Hemoglobina este o proteină conjugată. Fiecare moleculă de hemoglobină este constituită din patru grupări hem (care dau culoarea roşie a sângelui) şi o componentă proteică - globina.

1. Hemul

- structura biochimică a hem-ului este constituită dintr-un inel din atomi de carbon, oxigen, azot, numit protoporfirina IX, având în centru un atom de fier feros (Fe^{+2}) – ferroprotoporfirina. Fiecare grup hem se află într-un "buzunar" creat de lanţurile polipeptidice ale globinei, aproape de suprafaţa moleculei de hemoglobină. Hem-ul poate reacţiona rapid şi reversibil cu oxigenul şi bioxidul de carbon.
- hemul este sintetizat la nivelul mitocondriilor şi citoplasmei precursorilor eritrocitari, începând cu proeritroblastul şi până la reticulocit.

2. Globina

- globina din molecula de hemoglobină este un tetramer constituit din două perechi de lanţuri polipeptidice formate din 141-146 aminoacizi fiecare.
- variaţiile din secvenţa aminoacidică determină mai multe tipuri de lanţuri de globină. Există şase tipuri de lanţuri : alfa, beta, gamma, delta, epsilon şi zeta. Pentru fiecare, există o genă structurală codantă. Genele pentru lanţurile alfa şi zeta se află pe cromozomul 16, iar restul pe cromozomul 11.
- fiecare set de lanţuri monomere este sintetizat în cantităţi egale cu celelalte. Lanţurile sunt eliberate, după sintetizare, din ribozomi în citoplasmă, unde un lanţ alfa se combină cu un lanţ non-alfa pentru a forma un dimer. Dimerii se combină spontan câte doi pentru a forma tetramerii. La rândul lor, tetramerii sunt incorporaţi rapid în gruparea hem pentru a crea molecula de hemoglobină completă.
- în funcţie de lanţul non-alfa care intră în compoziţia dimerului, rezultă diferite tipuri de hemoglobină. La adult se găsesc :
  - * hemoglobina A (HbA - $\alpha + \beta$) - 97 - 98 %
  - * hemoglobina A2 (HbA2- $\alpha + \delta$) - sub 3 %
  - * hemoglobina fetală (HbF - $\alpha + \gamma$) - urme

Metabolismul eritrocitar

- eritrocitul matur este lipsit de nucleu, mitocondrii şi alte organite, fiind incapabil de a sintetiza lipide, proteine, de a realiza fosforilarea oxidativă, totuşi trebuie să supravieţuiască 120 zile menţinându-şi integritatea şi îndeplinind o serie de funcţii. Toate acestea, cu excepţia transportului O_2 şi CO_2, necesită energie.
- energia este necesară pentru :
  - menţinerea integrităţii membranei fosfolipidice
  - menţinerea integrităţii citoskeletului
  - menţinerea gradientelor ionice intracelulare

  - menţinerea fierului heminic în starea ferroasă, funcţională
  - protejarea proteinelor celulare de acţiunea de denaturare a factorilor oxidativi
  - sinteza glutationului
  - medierea reacţiilor de salvare a nucleotidelor
- energia eritrocitară este stocată sub formă de adenozin trifosfat (ATP), difosfat (ADP) şi monofostat (AMP) şi este rapid utilizabilă. Sursa principală de energie o reprezintă procesul de glicoliză anaerobă (majoritar – consumă 90-95% din glucoză) şi aerobă. Glucoza intră în eritrocit printr-un sistem de transport membranar.
  - o glicoliza anaerobă utilizează calea Embden-Meyerhof. Pe această cale, glucoza este metabolizată la acid lactic. În ansamblu, sunt consumate 2 molecule de ATP şi se produc patru molecule ATP, deci cu un câştig de două molecule de ATP pe fiecare moleculă de glucoză. În plus, şunturi ale acestei căi produc 2,3-DPG şi nicotinamid-adenin dinucleotid (NADPH), cofactor al reacţiei methemoglobin reductazei.
  - o glicoliza aerobă utilizează 5-10% din glucoza eritrocitară. Procesul are loc în cadrul căii hexozo-monofosfat denumit şi şuntul pentoz fosfat.

Supravieţuirea eritrocitară

- durata medie de supravieţuire a eritrocitelor, în organismul uman, este de aproximativ 120 zile ;
- eritrocitul matur şi-a pierdut nucleul şi ribozomii, astfel, el nu mai poate sintetiza proteine. În acelaşi timp, şi-a pierdut mitocondriile, astfel încât este dependent energetic de glicoliza anaerobă. Eritrocitul supravieţuieşte 4 luni, timp în care trebuie să circule pe distanţe mari, supus diferitelor stress-uri fizice şi chimice, cu un sistem de apărare limitat. Pe tot acest parcurs, eritrocitul este capabil să menţină rezerve stabile de ATP, NADH, NADPH, să menţină compoziţia ionică intracelulară, să facă reparaţiile necesare, să reducă methemoglobina şi glutationul redus, să sintetizeze glutation, să refacă membrana alterată ;
- tot acest efort permanent se va reflecta, în timp, în procesul de îmbătrânire, cu afectarea acestor sisteme de menţinere a homeostaziei eritrocitare, alterarea ei şi eliminarea eritrocitului îmbătrânit ;
- au fot implicate trei mecanime posibile de distrugere a globulelor roşii :
  - o ***liza intravasculară*** - odată cu îmbătrânirea, creşte şi susceptibilitatea la hemoliza prin agresiune osmotică, datorită pierderilor de fragmente membranare ce reduc raportul suprafaţă/volum eritrocitar cu pierderea din activitatea ATPazei membranare cu alterarea funcţiei pompelor membranare şi umflarea celulei ;
  - o ***eritrofagocitoza*** - ar reprezenta mecanismul principal de distrugere a hematiilor îmbătrânite. Acestea ar fixa complementul care ar stimula captarea lor şi fagocitoza de către celulele sistemului reticulo-endotelial;
  - o ***fragmentarea celulară*** - eritrocitele îmbătrânite devin mai rigide, mai puţin deformabile la trecerea prin microcirculaţie, mai ales splenică, ceea ce ar atrage desprinderea

unor fragmente membranare +/- de hemoglobină cu alterarea progresivă a integrităţii eritrocitare până la distrugerea completă.

- situs-uri de distrucţie eritrocitară :
  - ***hemoliza extravasculară*** - reprezintă 80-90% din procesul de distrucţie eritrocitară. În aceste situaţii, hemoliza se desfăşoară fără eliberare de hemoglobină în plasmă. La distrucţie ia parte sistemul macrofagic din diferite organe cu predominanţa celor din ficat şi splină. Se pare că, în caz de alterare severă a eritrocitelor, acestea sunt distruse predominant la nivel hepatic, datorită fluxului sanguin crescut de la nivelul acestui organ. În cazul unor leziuni mai mici, mai subtile (ca în procesul de îmbătrânire), eritrocitele sunt preluate din circulaţie şi distruse predominant de splină. În caz de splenectomie, funcţia este preluată rapid de macrofagele din ficat şi alte organe ;
  - ***hemoliza intravasculară*** - doar 10-20% din eritrocitele îmbătrânite sunt distruse în circulaţie cu eliberarea hemoglobinei în plasmă ;
- hemoglobina liberă în circulaţie se disociază rapid în dimeri alfa-beta. Dimerii sunt legaţi necovalent de Haptoglobină (Hp), formând un complex HbHp. Haptoglobina este o proteină transportoare de hemoglobină. Este sintetizată de hepatocite. Creşte în reacţiile inflamatorii (reactant de fază acută);
- complexul HbHp este captat de celulele parenchimului hepatic prin fixarea la un receptor specific. Intracelular, complexul este preluat de aparatul golgi, unde este clivat simetric cu obţinerea de fragmente Hb dimer-Hp dimer. Fiecare fragment este desfăcut în Hem şi globină-Hp, fiecare fiind metabolizat ulterior ca în cazul hemolizei extravasculare;
- la nivel hepatocitar, molecula de hemoglobină este dezasamblată în hem şi globină. Globina este metabolizată la aminoacizi care sunt reintegraţi în rezervele de aminoacizi ale organismului. Hemul este dezasamblat la fier şi inelul porfirinic. Fierul este fixat de transferină şi transportat la rezervele de fier, de unde va fi reutilizat pentru hematopoieză. Hemul este metabolizat la bilirubină. Bilirubina liberă (neconjugată/indirectă) este eliberată în circulaţie şi transportată la nivel hepatic, unde este preluată de hepatocite prin polul sanguin, unde, la nivelul reticulului endoplasmatic, este conjugată cu glucuronid. Forma monoglucuronid poate, parţial, regurgita în circulaţie (bilirubina conjugată/directă), restul trecând în forma diglucuronid şi fiind eliminat prin polul biliar în bilă, ajungând în intestin ;
- în intestin, bilirubina este metabolizată la urobilinogen. Din total, 80-90% sunt eliminate prin materiile fecale, iar 10-20% sunt reabsorbite în circulaţie. O parte se elimină la nivel renal, iar restul este excretat de către ficat, fără nici o modificare suplimentară, în intestin, închizând bucla.

FIZIOLOGIE LEUCOCITARĂ

GRANULOCITELE

Granulocitele din sânge sunt celule care, aşa cum arată şi numele, conţin în citoplasmă numeroase granulaţii. În funcţie de afinitatea tinctorială, se disting trei tipuri de granulaţii, care dau şi numele celor trei subpopulaţii de granulocite : neutrofile, eozinofile şi bazofile. Granulocitele neutrofile sunt cele mai numeroase.

Granulocitele se formează în măduva osoasă hematopoietică. Ele iau naştere, ca şi seria eritrocitară şi megacariocitară, dintr-o celulă susă pluripotentă, care se diferenţiază spre progenitorul specific liniei. Procesul de maturaţie la nivel medular durează aproximativ 7 zile şi cuprinde în jur de 4-5 mitoze. Procesul de diferenţiere şi maturare se traduce morfologic prin schimbări de formă ale nucleului şi o maturare progresivă a citoplasmei, cu pierderea bazofiliei şi apariţia de granulaţii specifice.

La nivel medular, în cadrul procesului de maturare, pot fi diferenţiate mai multe etape pe linia celulelor precursoare : mieloblast, promielocit, mielocit, metamielocit, granulocit nesegmentat şi granulocitul matur sau polimorfonuclearul (PN).

Neutrofilele constituie 40-70% din totalitatea globulelor din sânge. Linia lor de maturaţie constituie populaţia majoritară din maduvă. Raportul granulocite/eritroblaşti este de aproximativ 3/1.

GRANULOCITUL NEUTROFIL

Morfologie

Aspectul pe frotiu este al unei celule rotunde cu diametrul de 12-14 microni. Nucleul este format din segmente (blocuri) cromatiniene (2-5) reunite prin filamente fine. În sângele periferic, 50% din neutrofilele mature au 3 lobi şi sub 5% au 5 lobi sau peste. Citoplasma este roz, plină cu numeroase granulaţii neutrofile. 70-80% dintre granulaţii sunt neutrofile, iar restul sunt azurofile.

Pentru identificarea şi caracterizarea populaţiei granulocitare (de la precursor la celula matură), se pot utiliza reacţiile citochimice şi marcherii imunologici de suprafaţă.

1. Activitatea citochimică

- caracterizează granulocitele :
  - conţinutul citoplasmatic în glicogen determină o coloraţie roşie a citoplasmei prin tehnica PAS
  - granulaţiile sunt colorate cu un colorant pentru lipide - negru Sudan
  - mieloperoxidaza poate fi pusă în evidenţă prin reacţia enzimatică asupra ortotoluidinei sau benzidinei
  - fosfatazele acide şi alcaline pot fi evidenţiate printr-o reacţie de cuplaj cu un colorant
  - reacţia de evidenţiere a naftol-AS-D cloroacetat esterazei este fidelă pentru linia granulocitară. Esterazele nespecifice (alfa-naftil acetat esteraza şi naftol-AS-D acetat esteraza) sunt prezente şi în monocite, unde reacţia poate fi inhibată de fluorura de sodiu.

Reacţiile citochimice pot fi completate de cele imunocitochimice realizate cu ajutorul unor antiseruri specifice, dirijate contra unor proteine precum : mieloperoxidaza, lactoferina, lizozimul, elastaza, permiţând vizualizarea simultană a granulaţiilor azurofile şi neutrofile.

Imuno-fenotipare

Utilizarea unor anticorpi specifici permite identificarea unor markeri cu specificitate pentru linia granulocitară. Astfel, dacă **CD35** şi **CD34** sunt prezenţi la nivelul celulei suşe şi al celulelor progenitoare precoce (CFU-GM) pentru a dispare ulterior, **CD13** şi **CD15** persistă până la polinuclear. La nivelul membranei neutrofilelor mature, există receptori cu afinitate mare (**CD16**) şi slabă (**CDw32**) pentru fragmentul Fc al IgG.

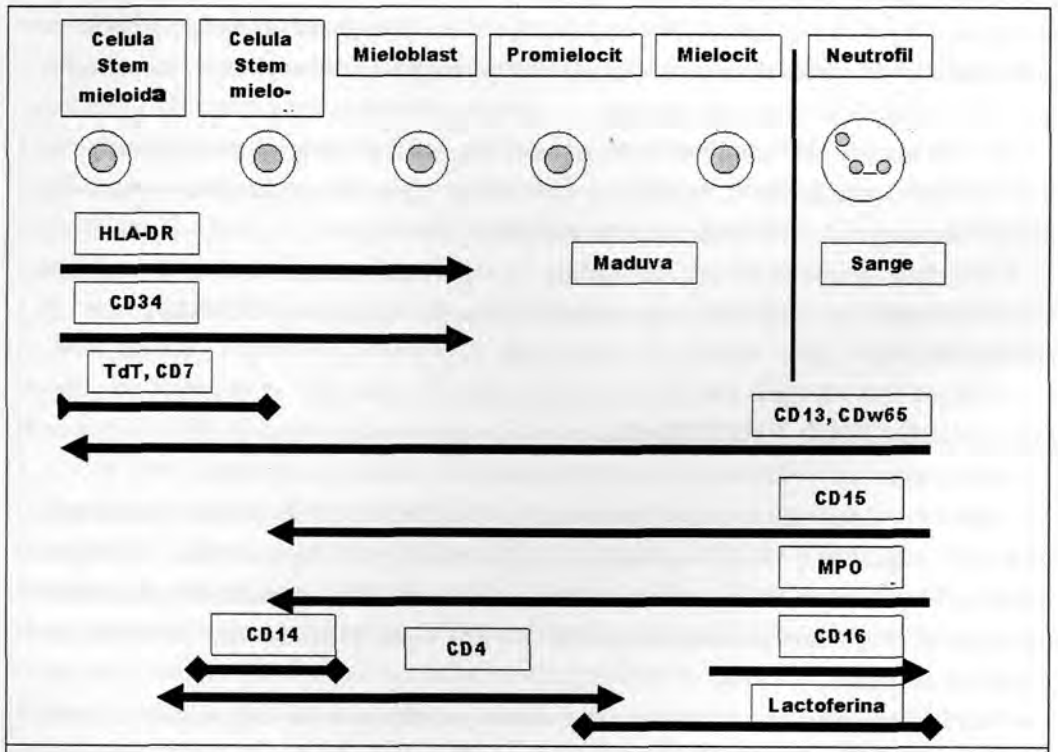


Figura 1. Evoluţia fenotipică a liniei granulocitare neutrofile

Funcţie

Rolul fiziologic principal al polinuclearelor neutrofile este acela de a distruge şi elimina orice agent patogen care a pătruns în organism. Ele asigură atât distrugerea, cât şi eliminarea moleculelor sau celulelor recunoscute ca anormale de către PN. În esenţă, pentru a-şi îndeplini funcţia, PN aderă la peretele capilarelor, îl traversează prin diapedeză şi se deplasează spre situs-ul de acţiune unde îşi va îngloba "prada" şi o va distruge. În cursul acestor acţiuni, PN secretă molecule ce vor recruta în situsul activ alte PN, monocite şi macrofage.

În principiu, PN îndeplineşte trei mari funcţii : de aderenţă, de deplasare şi de distrugere. Fiecare dintre aceste activităţi este aflată sub dependenţa unor factori extra-granulocitari, cât şi a unor factori granulocitari.

a. Aderenţa

- Este indispensabilă în exercitarea funcţiilor PN : la deplasare şi aderarea la celulele endoteliale din peretele capilar, cu traversarea peretelui, cât şi la înglobarea ţintei.
- Factorii extra-granulocitari ai aderenţei sunt reprezentaţi de structurile recunoscute de membrana granulocitară în mod nespecific (suprafaţa celulară încărcată electric) sau specific (secvenţă aminoacidică caracteristică).
- Factorii granulocitari ai aderenţei sunt reprezentaţi în special de grupele de glicoproteine membranare de aderenţă : Mo1, LFA-1 si gp150, 95.

b. Deplasarea

- Asigură migrarea PN spre locul unde are loc agresiunea patogenă. Deplasarea se poate realiza la întâmplare sau poate fi orientată de către factori chimiotactici pozitivi sau negativi, cu o viteză reglată de aceşti factori.
- Principalii factori chemotactici sunt :
  - fracţia complementului C5a (produs preferenţial de interacţiunea dintre complexele imune sau endotoxine cu serul)
  - activatorul plasminogenului
  - fibrinopeptidul A.
- Celule producătoare de agenţi chemotactici sunt :
  - celulele endoteliale
  - limfocitele
  - monocitele
  - PN în timpul fagocitozei
  - trombocitele (PF4)
  - mastocitele şi bazofilele după activare, bacteriile, mai ales în faza de multiplicare.
- Lipidele membranare peroxidate constituie un factor chemotactic important pentru epurarea celulelor îmbătrânite sau alterate.
- In urma primirii stimulului, PN se polarizează (schimbarea formei) rapid prin reorientarea elementelor din citoschelet cu formarea de expansiuni citoplasmatice la polul frontal (lamelipode) şi la polul caudal (uropod).

c. Fagocitoza

Fagocitoza cuprinde două subetape : de recunoaştere a structurii de înglobat şi înglobarea propriu-zisă, cu distrugerea ei.

Recunoaşterea este favorizată de prezenţa opsoninelor. Acestea sunt molecule de legatură între PN şi particulele de înglobat. Opsoninele recunosc particula şi sunt recunoscute de PN. Cele mai importante opsonine sunt imunoglobulinele şi fracţiile complementului : C3b şi

C3bi. La nivelul membranei PN există structuri de recunoaştere a opsoninelor care, după fixare, declanşează sistemul de transducţie a mesajului, cu declanşarea înglobării.

Astfel, porţiunea din membrana PN aderentă la structura de înglobat se invaginează treptat, cu învelirea particulei şi, în final, fuzionarea capetelor formate din dublul strat membranar. Rezultă o vacuolă, fagozom, care se detaşează de membrană. Diferitele granulaţii migrează către fagozom, fuzionează cu acesta şi deversează substanţele degradante.

Există două sisteme distructive. Unul dependent de oxigen, cu formarea de peroxid de hidrogen (H_2O_2) şi alţi compuşi oxigenaţi activi, şi utilizarea lor de către mieloperoxidază în prezenţa de halogenuri. Celălalt sistem este independent de oxigen şi se bazează pe proteinele cationice din granulaţiile azurofile.

Cele două sisteme conduc la degradarea constituenţilor agenţilor patogeni. În majoritatea cazurilor, însă, procesul distructiv determinat de PN este incomplet şi este necesară participarea monocitelor şi macrofagelor pentru a-l definitiva.

GRANULOCITUL EOZINOFIL

Eozinofilul a fost recunoscut de către Paul Ehrlich ca un tip special de granulocit în 1879. El ia naştere în măduva osoasă, unde constituie mai puţin de 5% din populaţia unei mielograme normale. Eozinofilele nu pot fi deosebite de neutrofile şi bazofile decât din stadiul de promielocit, datorită mărimii şi coloraţiei granulaţiilor specifice.

Morfologie

Promielocitul eozinofil este o celulă prezentă în proporţie de până la 2%, care se deosebeşte de cel neutrofil prin coloraţia granulaţiilor sale (mai mari) : la început albastre (May-Grunwald-Giemsa), albastru-violet, pentru a deveni progresiv portocalii, în faza de maturitate.

Mielocitul prezintă un nucleu similar cu al neutrofilului. Granulaţiile sferice, voluminoase sunt evidente, refringente, de culoare roşie-portocalie strălucitoare (eozina). Pe măsură ce se maturează, granulaţiile prezintă un corp dens cristalin în centru (m.e.), înconjurat de o matrice electron-densă, totul învelit într-o membrană în dublu strat. Durata perioadei de maturaţie din măduva osoasă este de 2-6 zile.

Polinuclearele eozinofile se găsesc în sânge în cifră absolută de 50-300/mm^3, constituind 1-5% din leucocite. Au o durată de semi-viaţă de 6-12 ore în circulaţie, apoi trec în ţesuturi, unde rămân 8-12 zile (piele, plămâni, tub digestiv). Nucleul este, în general, bilobat.

Funcţie

Eozinofilele participă în sinergism cu alte celule la reacţiile de hipersensibilitate. Eozinofilele, dotate cu chemotactism, sunt atrase de unele produse bacteriene şi fracţii ale complementului. Alţi factori chemotactici sunt : histamina, prostaglandinele D2 şi E2 şi factorul chemotactic al eozinofilelor (ECF) secretate de mastocite, şi limfokinele secretate de limfocitele activate.

Sosite în focarul inflamator, eozinofilele fagocitează particulele străine sau complexele imune, prin înglobare şi formarea de fagozomi cu deversarea conţinutului granulaţiilor. Ele pot modula reacţiile de hipersensibilizare şi inflamatorii prin degradarea şi inactivarea unor factori inflamatori de origine plachetară sau mastocitară. Ele eliberează histaminaza, prostaglandinele E1 şi E2 ce inhibă degranularea mastocitelor şi bazofilelor prin creşterea conţinutului în AMPc.

Eozinofilele au şi o activitate microbicidă, prin producerea unei explozii oxidative şi formarea de substanţe microbicide. Totuşi activitatea lor este inferioară celei a neutrofilelor. Sunt capabile să fagociteze particule opsonizate - bacterii, particule inerte, globule roşii, complexe imune, şi să le distrugă prin deversarea conţinutului granular în fagozom.

GRANULOCITUL BAZOFIL

Granulocitele bazofile sunt cele mai puţin numeroase dintre granulocitele circulante. Ele reprezintă mai puţin de 0,1% din celulele nucleate circulante (10 - 50/mm^3) şi 0,3% din celulele medulare.

Granulocitele bazofile iau naştere, ca şi precedentele, în măduva osoasă dintr-o celulă precursoare distinctă de a neutrofilelor şi eozinefilelor. Timpul de maturare este de aproximativ 7 zile, iar în circulaţie supravieţuiesc 3-4 zile. Prezintă o variaţie circadiană, crescând noaptea şi diminuând în cursul zilei.

Morfologie

Granulocitele bazofile se recunosc pe frotiu, prin comparaţie cu celelalte granulocite, datorită granulaţiilor voluminoase cu un diametru de 0,4 - 0,8 microni, de culoare albastră-neagră (prin coloraţia May-Grunwald-Giemsa). Nucleul nu prezintă aceeaşi segmentaţie tipică întâlnită la neutrofile. Astfel, majoritatea sunt puţin sau de loc segmentate.

Granulaţiile maschează parţial nucleul, fenomen observat şi la nivelul celulelor precursoare medulare, ceea ce face dificilă recunoaşterea stadiului de maturare. Granulaţiile încep să se formeze în stadiul de promielocit, procesul continuînd ulterior. Granulaţiile bazofile conţin histamină, reprezentând principala sursă de histamină din sânge, şi mucopolizaharide polisulfatate, responsabile de coloraţia specifică.

Bazofilele posedă pe membrană receptori pentru Fc ale IgG şi IgE, ca şi pentru fracţiile complementului : C3a, C5aC3bi, şi antigenul alfa al leucocitelor (alfa-LFA1), receptori pentru glicoproteina 150, CD13, CD34 leucocitare. Bazofilele conţin şi un factor chimiotactic pentru eozinofile.

Funcţie

Funcţia principală a bazofilelor pare a fi cea de descărcare a conţinutului granular în spaţiul extracelular. Funcţia fagocitantă este doar accesorie.

Degranularea se realizează, în principal, prin intermediul IgE. Acestea sunt fixate pe membrana bazofilelor prin intermediul receptorilor pentru Fc. Distribuţia lor este neregulată,

dar cu posibilitatea de a se masa la un pol, prin fenomenul de "capping". Prin fixarea simultană a peste două molecule de IgE de către anticorpi specifici, bi- sau multivalenţi determină degranularea. Aceasta poate fi provocată şi independent de IgE, de către anafilatoxine, veninuri de insecte, unele medicamente, produşii de contrast din radiologie.

Prin degranularea bazofilelor se eliberează o serie de substanţe farmacologice active precum : histamina, factorul chimiotactic al eozinofilelor, proteoglicani, leucotriene şi alţi metaboliţi ai acidului arahidonic, ca şi proteaze neutre. Eliberarea poate fi brutală, cu manifestări de hipersensibilitate imediată precum reacţiile anafilactice la medicamente, rinita alergică sau astmul. Bazofilele pot juca un rol şi în reacţiile de hipersensibilitate întîrziată când sunt recrutate activ, prin substanţe chimiotactice specifice, şi sunt recrutate în focarele inflamatorii extravasculare.

In concluzie, bazofilele joacă un rol major în hipersensibilitate, cît şi un rol, ce rămîne a fi definit, în inflamaţie.

SERIA MONOCITO – MACROFAGICĂ

Studiul ontogeniei, cineticii şi funcţiei celulelor fagocitante la animale a determinat crearea conceptului de sistem monocitic-macrofagic sau sistemul fagocitic mononuclear. Acest sistem cuprinde monoblaştii şi promonocitele din măduva osoasă, monocitele sanguine şi macrofagele libere şi fixate în ţesuturi.

Acest concept de sistem fagocitic mononuclear exclude polinuclearele, ca celule fagocitante, şi înlocuieşte conceptul mai vechi al lui Aschoff, din 1924, de sistem reticulo-endotelial care cuprindea, alături de macrofage, celulele endoteliale, celulele reticulare, celulele dendritice din centrii germinativi ai foliculilor ganglionari. Aceste celule joacă un rol complementar în activitatea fagocitantă, dar au origini diferite faţă de sistemul monocitic-macrofagic.

Producţie

Sistemul monocitic-macrofagic îşi are originea, ca şi restul elementelor figurate sanguine, la nivelul măduvei osoase hematoformatoare. Punctul de plecare îl constituie celula stem totipotentă. În prezent, există suficiente argumente în favoarea teoriei potrivit căreia monocitele şi neutrofilele provin dintr-o celulă progenitoare comună. Aceasta a fost numită Colony Forming Unit, Grnulocyte-Monocyte (CFU-GM), datorită capacităţii de a genera colonii mixte de monocite şi neutrofile. CFU-GM se va diferenţia ulterior spre una din cele două linii. Proliferarea şi diferenţierea progenitorilor spre linia monocitară, cât şi maturarea au nevoie de prezenţa factorilor de creştere : Monocyte - Colony stimulating factor (M-CSF) şi Granulocyte/Monocyte - Colony stimulating factor (GM-CSF).

Macrofagul constituie elementul central în reglarea monocitopoiezei. Macrofagul activat de diverşi stimuli (imuni, endotoxină) este capabil să producă M-CSF şi GM-CSF ce vor stimula monocitopoieza. In acelaşi timp, macrofagul produce citokine (TNF, IL-1), care vor stimula celulele endoteliale şi mezenchimale să producă M-CSF şi GM-CSF.

In acelaşi timp, GM-CSF interacţionează cu macrofagul matur şi îl activează, crescându-i potenţialul citotoxic. Limfocitul T activat secretă GM-CSF şi IL-3 care vor acţiona local şi vor regla proliferarea şi activarea macrofagelor în focar.

Morfologie

CFU-GM constituie celula progenitoare a seriei monocitare. Monoblastul şi promonocitul sunt celulele precursoare ale seriei.

1. Monoblastul normal este o celulă rară la nivelul măduvei osoase normale. Microscopia optică aproape că nu poate face diferenţierea cu mieloblastul. Monoblastul devine evident în situaţii patologice, cum este cazul leucemiei acute monoblastice (LAM5). In general, este o celulă cu aspect blastic, celulă tânără cu nucleu mare cu cromatină fin granulară şi uniform dispersată, şi cu nucleoli prezenţi.

2. Promonocitul reprezintă celula intermediară între monoblast şi monocit. Nucleul este puternic ancosat, neregulat şi prezintă filamente în mănunchi sau dispersate în citoplasmă.

3. Monocitul este cea mai mare celulă sanguină, are un diametru de 12-15 microni. Nucleul ocupă aproximativ jumătate din aria celulară şi este poziţionat, de obicei, excentric. Nucleul este adesea reniform sau puternic ancoşat, neregulat, mai rar rotund, dar cu contur neregulat. Cromatina este structurată în grămezi situate pe faţa internă a membranei nucleare, unite prin benzi fine cromatiniene. Citoplasma are o culoare cenuşie, gri-albastruie şi conţine fine granulaţii roz, care, uneori, pot fi numeroase, încît dau citoplasmei o tentă roz. In citoplasmă pot fi prezente vacuole în număr variabil.

Monocitele părăsesc măduva la scurt timp după ultima diviziune celulară, ceea ce explică faptul că, spre deosebire de granulocite, nu există o rezervă medulară de monocite. Ele trec în circuitul sanguin. La adultul normal, monocitele reprezintă 1-6% din populaţia leucocitară.

Monocitele petrec între 36-104 ore (în medie 71 ore) în sângele circulant, apoi trec în ţesuturi şi se transformă în macrofage. Odată intrate în ţesuturi, monocitele nu mai reintră în fluxul sanguin. Pe măsura evoluţiei spre macrofag, celula creşte ca volum, creşte numărul de lizozomi şi încărcătura lor enzimatică, creşte numărul şi mărimea mitocondriilor cu creşterea metabolismului energetic. Toate aceste transformări asigură o capactate fagocitantă sporită. Se formează numeroşi lizozomi secundari prin fuziunea celor primari cu fagozomii rezultaţi prin fagocitoză si pinocitoză.

4. Macrofagele sunt celule mari, cu diametrul de 25-50 microni. Au un nucleu reniform sau fuziform plasat excentric, cu o cromatină nucleară fin granulară cu tendinţa la compactare pe faţa internă a membranei nucleare şi prezintă unul sau doi nucleoli evidenţi. Citoplasma prezintă granulaţii fine şi granulaţii azurofile mari. Limitele celulei sunt neregulate. La periferie prezintă vacuole citoplasmate datorită procesului de pinocitoză. In plus, macrofagele capătă caracteristici morfologice specifice ţesutului în care se localizează. Astfel, macrofagele din splină prezintă eritrofagocitoză şi granule de feritină prin procesul de distrucţie a hematiilor senescente. Macrofagele medulare (nursing cells) formează insule eritroblastice.

Macrofagele din alveolele pulmonare, *lamina propria* intestinală şi cele peritoneale prezintă caractere specifice activităţii de fagocitoză a microorganismelor şi resturilor celulare.

Macrofagele tisulare există sub mai multe forme care cuprind : celulele Kupffer hepatice, macrofagele alveolare pulmonare, celulele gigante din granuloame, celulele dermale Langerhans, celulele microgliale din creier, macrofagele peritoneale, pleurale, ganglionare, osteoclastele.

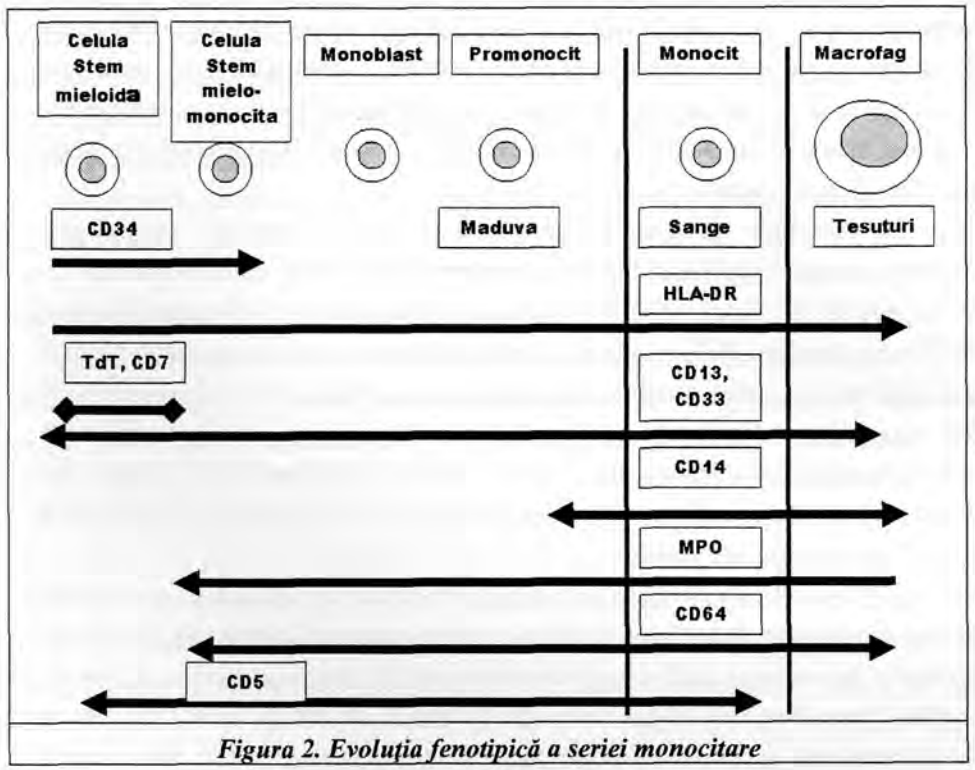


Figura 2. Evoluţia fenotipică a seriei monocitare

Macrofagele mature şi-au pierdut activitatea peroxidazică, dar şi-au menţinut capacitatea de proliferare, aflată sub un sistem reglator local. Macrofagele pot da naştere la celulele gigante multinucleate fie printr-un proces de fuziune, fie printr-un proces de endoreduplicare nucleară.

Celulele sistemului monocito-macrofagic prezintă la nivel membranar o serie de antigene care au fost caracterizate prin cuplarea cu o serie de anticorpi monoclonali. Prezenţa lor constituie markeri pentru originea liniei celulare, markeri de diferenţiere şi markeri de funcţie celulară. Dintre aceşti markeri fac parte : receptorii pentru fragmentul Fc al imunglobulinelor, HLA-DR, Mac1, CD4, receptorii pentru complement.

Funcţie

Funcţiile fagocitelor mononucleate cuprind :

- fagocitarea şi digestia microorganismelor, elementelor particulate sau resturilor tisulare;
- secreţia de mediatori chimici şi reglarea răspunsului inflamator ;
- interacţiunea cu antigenul şi limfocitul în generarea răspunsului imun ;
- citotoxicitatea dirijată împotriva unor celule ;
- funcţii specifice macrofagelor în funcţie de ţesutul de rezidenţă.

a) Fagocitoza

Această funcţie este fundamentală pentru a asigura mecanismele de apărare anti-infecţioasă şi epurarea organismului de toate particulele străine, ca şi de cele proprii, dar alterate. Fagocitul mononuclear este capabil să facă deosebirea între self, self-ul îmbătrânit, self-ul neoplazic şi elementul străin, non-self. Această capacitate se poate datora structurilor receptoare de la nivel membranar.

Fagocitele mononucleare sunt atrase în focar printr-un proces de chemotaxie şi necrotaxie. Fagocitoza este declanşată printr-un contact cu membrana macrofagului ce asigură semnalul iniţial. Contactul este facilitat atunci când particula de fagocitat este opsonizată, adică acoperită de molecule de Ig şi fracţii ale complementului, care sunt recunoscute de receptorii membranari macrofagici.

Inglobarea poartă numele de pinocitoză, când substanţa de înglobat este solubilă, şi fagocitoză, când aceasta este particulată. Se formează astfel vacuolele pinocitice sau fagocitice (fgozomi) care vor fuziona cu lizozomii primari, dând lizozomii secundari sau fagolizozomii. Lizozomii primari conţin un aparat enzimatic destructiv foarte bogat (beta-glicuronidază, fosfatază acidă, catepsină, lizozim, sulfatază, lipază, glicozidază, elastază, colagenază, dezoxiribonuclează, arginază, activator al plasminogenului). Crearea fagolizozomilor duce la deversarea echipamentului enzimatic cu declanşarea digestiei. In timpul fagocitozei, metabolismul oxidativ (similar celui al neutrofilelor) generează derivaţi toxici precum ionul superoxid şi peroxidul de hidrogen cu acţiune distructivă.

Deşi mulţi microbi sunt fagocitaţi şi distruşi cu eficacitate comparabilă de către neutrofile şi macrofage, există câţiva germeni patogeni care pot parazita macrofagul şi se pot replica în interior. Din această categorie fac parte : *Listeria, Salmonella, Brucella, Mycobacterium, Chlamydia, Rickettsia, Leishmania, Toxoplasma, Trypanosoma, Legionella. Mycobacterium tuberculosis* poate elibera sulfolipide care împiedică fuziunea lizozomilor primari cu fagosomii. *Leishmania* supravieţuieşte în lizozomii secundari. Macrofagele activate de interferonul gamma, TNF sau IL-1 au o capacitate litică superioară şi pot distruge şi aceşti germeni paraziţi.

Fagocitele mononucleare pot produce interferon, deci pot asigura protecţie antivirală. Unele proteine cationice macrofagice pot avea activitate antifungică.

b) Funcţia secretorie

Celulele sistemului monocitic-macrofagic sunt capabile să elibereze în mediul extracelular unele substanţe pe care le sintetizează (şi le stochează sau nu).

Eliberarea de enzime hidrolitice în mediul extracelular poate conduce la degradarea colagenului, membranei bazale sau altor componente ale ţesutului conjunctiv, poate hidroliza complementul, imunglobulinele, kininele.

Metaboliţii activi ai oxigenului pot fi eliberaţi din macrofagele activate cu exersarea unei activităţi bactericide şi în mediul extracelular.

Lizozimul este destinat unei secreţii rapide şi nu unui stocaj intracelular.

Macrofagele tisulare elaborează o serie de substanţe cu rol modulator al răspunsului inflamator :

- proteaze active la pH neutru, precum activatorul plasminogenului, colagenaza şi elastaza;
- fracţiuni ale complementului;
- prostaglandine, în primul rînd PGE2;
- citokine sau monokine cu rol în procesul inflamator şi de reglare a hematopoiezei:
  - **Interleukina 1 (IL-1)** cu acţiune sistemică : febră, inducerea secreţiei hepatice de proteine inflamatorii, eliberarea de neutrofile de către măduvă, activarea limfocitelor.
  - **Tumor Necrosis Factor (TNF)** cu proprietăţi citostatice şi citolitice dirijate contra multor linii celulare maligne.
  - **factori de competenţă** care antrenează recrutarea şi mobilizarea de celule mezenchimale (fibroblaste) - PDGF, stimulant al fibroblastelor şi chimiotactic pentru fibre musculare netede, fibronectina cu rol în proliferarea şi diferenţierea celulară.
  - **factori de progresie** care antrenează proliferarea celulelor de mai sus - somatomedina.
  - **factori de creştere** pentru celulele hematopoietice - GM-CSF, G-CSF.

c) Funcţia tumoricidă

Funcţia tumoricidă se bazează mai puţin pe fagocitoza celulelor tumorale, cât pe o acţiune exercitată la contactul intercellular, prin secreţia unor substanţe citotoxice - proteine lizozomale, metaboliţi ai oxigenului, proteaze şi citokine.

d) Funcţia în răspunsul imunitar

Rolul monocitelor-macrofagelor în cadrul răspunsului imun este esenţial, în colaborare cu limfocitele - se reglează reciproc. Această colaborare se realizează pe două niveluri : în faza de inducţie a răspunsului şi în cea de realizare a răspunsului.

În faza de inducere a răspunsului imun, sistemul macrofagic joacă rolul de prezentator al antigenului către limfocitele capabile de recunoaştere specifică. Acest rol se exercită mai ales asupra antigenelor "timodependente". Este vorba de antigenele pentru care stimularea limfocitelor B specifice necesită colaborarea cu limfocitul T.

Astfel, macrofagul înglobează antigenul, se formează fagolizozomul unde are loc digestia parţială a antigenului (processing) cu păstrarea fragmentului proteic determinant, numit epitop, cuplarea sa cu molecule HLA de clasă II şi exprimarea complexului, prin endocitoză, la suprafaţa membranei macrofagului. Macrofagul astfel activat va intra în contact cu limfocitul T CD4+ corespunzător şi îl activează prin sinteza de IL-1. LT CD4+ activat va exprima receptori pentru IL-2 şi va începe secreţia de IL-2 cu formarea unei bucle autocrine activatoare.

În faza efectoare a răspunsului imunitar, caracterizată printr-un răspuns dirijat specific contra unui antigen, are loc recrutarea unui număr crescut de monocite-macrofage prin limfokine şi Ig cu eliminarea antigenului. Astfel, antigenul complexat de anticorp, eventual cuplat şi cu complementul, va fi captat mai uşor şi distrus mai eficace de către macrofag. În cazul imunităţii de tip celular, la reintroducerea antigenului are loc acumularea de limfocite şi macrofage la locul respectiv. Limfocitele specifice de antigen, activate, sintetizează factori solubili - limfokine - capabili să recruteze şi să activeze macrofage : MIF (Migration Inhibitory Factor) şi MAF (Macrophage Activatig Factor).

HEMOSTAZA - FIZIOLOGIE

Hemostaza asigură prevenirea şi controlul hemoragiei. Ea angajează un mecanism complex de reacţii la care participă factori vasculari, plachetari şi plasmatici. În cursul acestui proces, sunt individualizate trei mari etape :

1. hemostaza primară
2. coagularea
3. fibrinoliza

HEMOSTAZA PRIMARĂ

Hemostaza primară are drept scop formarea trombusului alb, constituit în principal din plachete şi câteva fibre de fibrină care îl consolidează. La această etapă participă endoteliul vascular şi plachetele.

Funcţia principală a endoteliului intact este de a preveni hemostaza şi agregarea plachetară. În acest scop, produce o serie de substanţe cu rol inhibitor al agregării (prostaciclina) şi al coagulării (antitrombina III, activatorul proteinei C). Participarea la coagulare se face şi prin sinteza factorului tisular şi a fatorului von Willebrand. Lezarea endoteliului permite contactul factorilor coagulării şi plachetelor cu structurile conjunctive subendoteliale.

Etapa hemostazei primare cuprinde :

a) ***contracţia vasului*** secţionat, fenomen reflex ce poate fi suficient în oprirea hemoragiei la nivelul vaselor de calibru mic;

b) ***adeziunea trombocitară***, adică fixarea lor la structurile subendoteliale (colagen, microfibrile, membrană bazală) denudate. Procesul necesită prezenţa factorului von Willebrand, care realizează legătura între trombocite şi structurile subendoteliale. Factorul

von Willebrand se fixează pe structurile subendoteliale, în special colagenul, ceea ce determină modificarea conformaţiei ce îi permite fixarea pe trombocitele circulante.

c) ***activarea trombocitară*** urmează imediat adeziunii trombocitare şi constă în activitatea de sinteză şi eliminarea conţinutului granulaţiilor plachetare alfa, dense şi eventual lizozomale. După acţiunea stimulilor activatori, granulele se adună în centrul trombocitului, membrana lor fuzionează cu aceea a sistemului canalicular ce comunică cu exteriorul şi conţinutul este expulzat. Produşii trombocitari importanţi eliberaţi prin fenomenul de excreţie sunt :

- *Factorul 3 trombocitar* – reprezentat de fosfolipidele acide din membrana trombocitară care sunt expuse la suprafaţa membranei, constituind substratul de contact şi fixare pentru diverşi factori ai coagulării, etapă esenţială în coagulare.
- *Factorul 4 trombocitar* – numit şi factorul antiheparinic trombocitar deoarece neutralizează acţiunea anticoagulantă a heparinei.
- *Factorul 5 trombocitar* – sau fibrinogenul trombocitar cu sensibilitate mai scăzută la trombină faţă de cel plasmatic.
- *Antiplasmina* – identică cu cea plasmatică, are rolul de protecţie a fibrinei proaspăt formate.
- *Factorul stabilizator al fibrinei* – cu rol în transformarea fibrinei în forma sa insolubilă.

d) ***agregarea trombocitară*** - reprezintă proprietatea acestora de a se uni între ele. Inductorii agregării (ADP, serotonina, tromboxanul A2, trombina) provoacă modificări membranare. Acestea conduc la gruparea complexelor IIb-IIIa cu modificarea lor conformaţională ce permite fixarea fibrinogenului şi calciului. În acelaşi timp, factorii coagulării se fixează la suprafaţa trombocitelor, declanşând următoarea etapă.

Rezultă astfel trombusul alb care creşte în volum prin atragerea şi activarea altor trombocite circulante. Fibrinogenul fixat pe trombocitele aderente suferă o modificare conformaţională ce îl face capabil să se fixeze pe trombocitele circulante neactivate. Tot acest proces se află sub un control care limitează creşterea acestuia. Astfel, plasma degradează ADP, inhibă trombina prin antitrombine, degradează PAF, iar celulele endoteliale degradează ADP, fixează şi inactivează trombina, sintetizează prostaciclina şi EDRF, ambele fiind vasodilatatoare puternice şi inhibitoare ale excreţiei plachetare.

COAGULAREA

Coagularea are drept finalitate formarea trombusului roşu, constituit din fibre de fibrină înglobând hematii (cheagul). Această etapă presupune intervenţia unor factori plasmatici, plachetari şi tisulari şi se desfăşoară în patru etape :

- formarea tromboplastinei activate (prin colaborarea căilor extrinsecă şi intrinsecă) ;
- formarea trombinei din protrombină sub acţiunea tromboplastinei activate ;
- formarea fibrinei din fibrinogen sub acţiunea trombinei ;
- consolidarea reţelei de fibrină sub acţiunea factorului XIII.

Trombina se formează după o serie de reacţii în cascadă. Trecerea de la un palier la altul nu se produce decât dacă este atinsă o anumită concentraţie de produs generat. La fiecare

etapă, un substrat sau precursor inactiv este activat de o enzimă în prezenţa unui cofactor la nivelul fosfolipidelor anionice expuse pe faţa externă a membranei plachetare activate.

În condiţii fiziologice, nivelul de activare a protrombinei în trombină este foarte slab şi depinde de activarea căii extrinseci. După producerea unei leziuni vasculare, calea extrinsecă iniţiază cascada de reacţii.

a. Formarea tromboplastinei activate

La **calea extrinsecă** participă ***factorul VII*** (sintetizat la nivel hepatic, dependent de vitamina K) şi ***factorul tisular*** (prezent în peretele vascular, sintetizat de celulele musculare netede).

Factorul tisular (FT) este o glicoproteină transmembranară, localizată în mai multe tipuri celulare, printre care şi celulele adventiceale din peretele vascular. În contextul lezării vasculare cu expunerea structurilor subendoteliale, FT este expus. El are o mare afinitate pentru FVII şi $FVII_a$ astfel încât complexele FT-FVII şi FT-$FVII_a$ sunt formate rapid. FVII legat de FT este activat rapid.

Factorul VII_a activat (prin proteoliză) legat de FT activează prin proteoliză, în prezenţa ionilor de calciu, ***factorul X*** fixat pe fosfolipidele factorului tisular.

Factorul VII_a legat de factorul tisular activează, în prezenţa ionilor de calciu, şi factorul IX fixat pe fosfolipidele din membrane plachetară. Factorul IX_a, în prezenţa factorului VIII şi a ionilor de calciu, activează factorul X în X_a. Aceasta reprezintă **calea alternă**.

Calea intrinsecă începe cu faza de contact, fiind declanşată la contactul cu structuri endoteliale. Necesită patru factori : ***factorul XII***, ***XI***, ***prekalikreina*** şi ***kininogenul*** cu masă moleculară mare. Toate acestea formează un complex care se fixează pe fibrele de colagen.

După legarea de kininogen, FXII este transformat lent în forma sa activă cu capacitate proteolitică. $FXII_a$ converteşte prekalicreina în kalicreină şi FXI în FXI_a. Calicreina accelerează activarea FXII. Calicreina, împreună cu kininogenul, formează bradikinina, care activează FXII. Reacţiile acestea se desfăşoară în absenţa calciului.

Factorul XI_a în prezenţa FXII proteolizează ***factorul IX*** cu obţinerea FIX_a în prezenţa ionilor de calciu. Factorul IX_a activează factorul X în prezenţa factorului $VIII_a$ (pe post de cofactor) şi a fosfolipidelor oferite de membrana trombocitară. Factorul VIII acţionează ca un cofactor doar după ce a fost modificat prin proteoliză de către trombină (FII_a). În absenţa FVIII, FIX_a poate activa FX foarte lent şi doar în proporţie foarte redusă.

b. Formarea trombinei

Urmează **calea comună**. ***Factorul X_a*** şi ***factorul II*** (protrombina) se fixează pe fosfolipidele acide din membrana trombocitară prin punţi de calciu. ***Factorul V_a*** (activat de trombinăşi X_a) se fixează la fosfolipide prin legături hidrofobe. Acest complex, denumit protrombinază sau tromboplastină activată accelerează proteoliza ***protrombinei*** (II) în ***trombină*** (IIa). În cadrul complexului, FX_a are rol enzimatic-proteolitic cu acţiune directă asupra FII şi transformarea ei în FII_a. FV_a are rol de cofactor, pe de o parte se fixează pe

membrana trombocitară, antrenând modificări conformaţionale cu expunerea mai multor situsuri de fixare a FX_a, pe de altă parte accelerează reacţia de activare a FII. FV_a fixat de membrană este protejat de acţiunea proteinei C activate.

c. Fibrinoformarea

Trombina acţionează asupra fibrinogenului cu proteoliza unor legături arginină-glicină, la capetele amino-terminale ale lanţurilor alfa şi beta cu eliberarea de fragmente (fibrinopeptidele A şi B) şi formarea de monomeri de fibrină (B_2). Aceştia polimerizează - eliminarea fibrinopeptidului A facilitează polimerizarea longitudinală, în timp ce eliminarea fibrinopeptidului B facilitează polimerizarea transversală - rezultând fibrina. Aceasta are aspectul unei reţele tridimensionale instabile datorită legăturilor slabe de hidrogen dintre monomeri. Reţeaua este stabilizată de ***factorul XIII$_a$*** prin formarea de legături covalente între lanţurile gamma a două molecule de fibrină (fibrinoformarea). Factorul XIII este activat de trombină. Fibrina care se formează se leagă de eritrocite, leucocite şi trombocite cu formarea cheagului roşu.

Stabilizarea reţelei de fibrină este urmată de două fenomene :

➢ ***sinereza*** – este proprietatea unui gel de a-şi reasambla constituenţii în structuri cu grad mai mare de reticulare pentru a deveni mai stabil. Are loc expulzarea lichidului de imbibiţie din ochiurile reţelei de fibrină cu reducerea volumului cheagului la aproximativ 20% din volumul iniţial. Fenomenul nu presupune scurtarea filamentelor de fibrină.

➢ ***retracţia cheagului*** – presupune scurtarea filamentelor de fibrină sub acţiunea trombosteninei trombocitare, cu expulzarea elementelor sanguine nefixate. Rezultă cheagul ferm, stabil.

FIBRINOLIZA

Fibrinoliza reprezintă procesul de liză a fibrinei permiţând distrugerea cheagului cu dezobstrucţia vasului. În mod fiziologic, ea intervine după hemostaza primară şi coagulare pentru eliminarea cheagului hemostatic şi, în general, intervine pentru îndepărtarea tuturor depozitelor fibrinoase, oricare ar fi localizarea lor. Fibrinoliza cuprinde două sisteme : unul dependent de plaminogen (cel mai important) şi unul independent de acesta.

Procesul de fibrinoliză este realizat de către o enzimă proteolitică - **plasmina**, prezentă în circulaţie sub formă de precursor inactiv - **plasminogenul**. Acesta este transformat în forma activă sub acţiunea unor activatori plasmatici şi tisulari.

Activarea plasminogenului se face în diferite moduri :

- activarea legată de faza de contact - activarea căii intrinseci a coagulării antrenează pe cea a sistemului fibrinolitic. Kalikreina ar fi cea implicată în activarea fibrinolizei ;
- activarea endogenă - intervine activatorul tisular al plasminogenului (***t-PA***) şi urokinaza (***u-PA***). t-PA plasmatic provine din celulele endoteliale, iar u-PA este produs de numeroase celule, în special renale. Ambele circulă în mod normal legate de inhibitorii activatorilor de plasminogen (***PAI-1*** sintetizat de celulele endoteliale, hepatice şi ***PAI-2*** sintetizat de epiteliul

trofoblastic placentar). După stimulare, t-PA este eliberat din complex şi se găseşte în exces faţă de PAI-1, putând acţiona proteolitic asupra plasminogenului în prezenţa unui cofactor - fibrina. Aceasta fixează şi t-PA şi plasminogenul.

- la procesul de activare participă şi diferite celule : endoteliale, macrofage, plachete.

Activarea plasminogenului legat de fibrină în plasmină duce la proteoliza fibrinei conducând la formarea de produşi de degradare (PDF) care au capacitatea de a inhiba fibrinoformarea şi agregarea plachetară.

Plasmina liberă este inhibată de alfa-2-antiplasmină, formând un complex stoechiometric. Când peste jumătate din moleculele de plasminogen sunt activate, capacitatea inhibitorie a alfa-2-antiplasminei este depăşită şi există riscul unei fibrinogenolize. Cuplarea plasminei cu antiplasmina este inhibată de către acidul amino-caproic şi acidul tranexamic.

Fibrinoliza independentă de plasminogen reprezintă 20% din activitatea fibrinolitică şi este legată de enzimele lizozomale ale neutrofilelor : elastaza, catepsina G.

Întregul proces este reglat prin echilibrul delicat între factori activatori si inhibitori, interacţiunea dintre diferiţi factori, retroacţiunea unora dintre ei de amplificare sau feed-back negativ.

SEMEIOLOGIE HEMATOLOGICĂ

FOAIA DE OBSERVAŢIE ÎN HEMATOLOGIE

ANAMNEZA

Fiecare din etapele anamnezei poate orienta, într-un context clinic şi biologic sugestiv, spre o anumită afecţiune hematologică.

DATE PERSONALE

1. Vârsta

- La copii pot fi diagnosticate mai frecvent :
  - hemofilia – deficit congenital în factorii coagulării VIII/IX, cu tendinţă la hemoragii spontane şi, în situaţii particulare, precum circumcizia, traumatismele minore, erupţia dentară; apare la băieţi
  - purpura trombocitopenică autoimună (PTAI) - în special forma acută, dar şi cea cronică
  - anemii hemolitice corpusculare – talassemii...
  - leucemiile acute – în special formele limfoblastice
  - limfoamele non-hodgkin – forme agresive, cu înaltă malignitate
- La adultul tânăr se semnalează o incidenţă mai crescută a :
  - purpurei trombocitopenice autoimune - survine rar după vârsta de 40 ani
  - bolii Hodgkin – cu o distribuţie bimodală şi un prim vârf al incidenţei la adolescenţă
- La adulţi se remarcă o incidenţă crescută a :
  - anemiilor feriprive – prin sângerări cronice predominant digestive (la bărbaţi) şi genitale (la femei)
  - anemiilor megaloblastice Biermer sau parabiermeriene
  - leucemiilor acute – predominant mieloblastice
  - leucemiilor cronice (leucemie granulocitară cronică a cărei vârsta de debut are tendinţa de scădere)
  - bolii Hodgkin, limfoamelor maligne non-hodgkiniene
  - mielomului multiplu
- La vârstnici
  - anemii carenţiale, paraneoplazice
  - purpure vasculare – predominant senile
  - sindroame mielodisplazice
  - leucemii cronice – predominant leucemia limfatică cronică a cărei incidenţă creşte după vârsta de 60-70 ani
  - limfoame non-hodgkin – predominant formele indolente, de joasă malignitate

2. Sexul

La bărbaţi sunt mai frecvente hemofilia, sdr limfoproliferative cronice

La femei sunt mai frecvente : anemia feriprivă, purpura trombocitopenică autoimună.

3. Antecedente heredo-colaterale :

- prezenţa la membrii familiei a unor anemii cu caracter hemolitic cronic poate orienta spre o anemie hemolitică ereditară corpusculară;
- prezenţa de accidente hemoragice la alţi membrii din familie de sex masculin, pe linie maternă, orientează spre o hemofilie
- prezenţa de antecedente familiale neoplazice, predominant hematologice, poate semnala o familie cu agregarea cazurilor neoplazice.

4. Antecedente personale fiziologice:

- prezenţa de la debut a unor perioade catameniale mai prelungite şi/sau mai abundente poate orienta spre o anemie feripriva
- prezenţa unor avorturi spontane repetate sau a unor sarcini oprite în evoluţie poate orienta spre o trombofilie.

5. Antecedente personale patologice :

Se vor nota toate situaţiile patologice şi, în special, cele care pot explica tabloul hematologic actual, cele care pot influenţa sistemul hematopoietic şi conduce la o afecţiune hematologică:

- afecţiuni renale cronice – pot duce la apriţia unei anemii prin mecanism mixt
- infecţii acute şi cronice – pot induce anemii, leucopenii
- parazitoze
    - malaria – anemie hemolitică
    - toxoplasmoza – apariţia de adenopatii ce pot mima un sdr limfoproliferativ
    - botriocefaloza – anemie prin deficit de vitamina B12 (hiperconsum)
    - leishmanioza – splenomegalie şi pancitopenie
- infecţii cronice
    - HIV – prin imunodepresia secundară dobândită, favorizează apariţia de anomalii hematologice şi de neoplazii, predominant limfoame maligne
    - virusul hepatitic C – infecţia cronică poate favoriza evoluţia spre crioglobulinemie şi limfom malign non-hodgkinian
    - Helicobacter pylori – favorizează apariţia limfoamelor gastrice de tip MALT
- boli cardio-vasculare cu hipoxie cronică - pot determina apariţia unei poliglobulii secundare
- rezecţii gastrice sau intestinale – pot antrena anemii carenţiale (feriprive, avitaminoze) prin tulburări de absorbţie.
- patologii digestive sau genitale cu hemoragii cronice – anemii feriprive

- hepatopatii cronice – pot antrena splenomegalie şi hipersplenism cu citopenii variabile, iar, în formele severe, antrenează deficite de sinteză a factorilor coagulării, cu tendinţă la sângerări
- boli de sistem de tip colagnenoze – pot antrena citopenii autoimune
- boli endocrine de tip hipotiroidism, insuficienţă suprarenală - pot determina anemii secundare prin mecanism mixt

6. Profesia şi condiţiile de muncă

Activitatea profesională poate facilita contactul cu produse fizice sau chimice care au influenţă asupra sistemului hematopoietic, antrenând patologii de tip deficit sau proliferative care pot fi recunoscute (unele ca boli profesionale) :

- expunerea cronică la radiaţii ionizante (mine de uraniu, laboratoare nucleare, servicii de medicină nucleară, medicină imagistică sau radioterapie) poate favoriza apariţia de neoplazii sau aplazie medulară;
- expunerea prelungită la anumite substanţe chimice (derivaţi de benzen, tetraclorură de carbon, produse organoclorurate)) poate favoriza apariţia de neoplazii sau aplazie medulară;
- expunerea prelungită la plumb (vopsitori, instalatori) poate antrena o intoxicaţie cronică – saturnism cu anemie cronică.

7. Condiţii de viaţă, obiceiuri

- condiţiile de locuit (socio-economice) – pot influenţa starea de sănătate
- obiceiurile alimentare – anumite diete restrictive pot antrena deficite nutriţionale în oligoelemente şi vitamine, ducând la anemii carenţiale
- consumul medicamentos cronic poate antrena afectarea sistemului hematopoietic :
    - aplazia medulară - cloramfenicol, săruri de aur, antiinflamatorii nesteroidiene, anticonvulsivante, citostatice
    - anemie feriprivă prin sângerări cronice – aspirină, antiinflamatorii nesteroidiene, corticoizi
    - alterarea hemostazei primare cu timp de sângerare prelungit – aspirină, antiinflamatorii nesteroidiene
    - anemii hemolitice – fenacetină, chinidină, sulfamide, metildopa
    - trombocitopenii autoimune – heparinele...
- deplasări în zone endemice – malarie, leishmanioză...
- comportamentul sexual, consumul de droguri – favorizează infecţiile cu HIV, EBV, VHC, VHB – cu complicaţiile respective

SIMPTOME FUNCŢIONALE ŞI GENERALE

Majoritatea bolilor de sânge afectează diferite organe şi sisteme, motiv pentru care semnele generale şi specifice sunt variate.

1. Sindromul anemic

- este prezent la un număr important de hemopatii. Sindromul anemic este secundar hipoxiei cronice, prin scăderea nivelului de hemoglobină (transportatorul de oxigen), şi mecanismelor compensatorii puse în acţiune de către organism. Antrenează manifestări :

- neuropsihice :
  - cefalee, ameţeli, vertije
  - astenie fizică şi psihică, fatigabilitate, scăderea capacităţii de concentrare
  - scăderea acuităţii vizuale
  - parestezii (amorţeli, furnicături, senzaţie de frig şi greutate) la nivelul extremităţilor – mâini, picioare (an Biermer)
  - ataxie locomotorie, abolirea reflexelor osteo-tendinoase (deficit vitamina B12)
  - manifestari de tip piramidal cu paraplegie spastică, reflexe vii polichinetice cu evoluţie la paraplegie flască şi incontinenţă sfincteriană (deficit vitamina B12)
  - tulburări psihice – irascibilitate, somnolenţă, excitaţie sau depresie (nebunia megaloblastică)
- respiratorii – dispnee cu polipnee
- cardio-vasculare – dispnee progresivă de efort → repaos, palpitaţii, dureri toracice de tip anginos, claudicaţie intermitentă

2. Simptome digestive :

- diminuare apetit până la anorexie – în anemia megaloblastică, bolile neoplazice
- senzaţia de usturime, arsuri, dureri la nivel lingual – în anemia Biermer şi anemia feriprivă (tulburări trofice ale mucoaselor)
- jena la deglutiţie (disfagia înaltă) sau sdr Plummer-Vinson - în anemia feriprivă (tulburări trofice ale mucoaselor)
- dureri abdominale intense – în complicaţiile trombotice din sdr mieloproliferative cronice (infarct splenic, tromboze mezenterice), în purpura vasculară de tip Henoch-Schonlein
- dureri abdominale variabile, cu senzaţia de saţietate precoce şi inapetenţă - în caz de splenomegalie din sdr mieloproliferative cronice sau limfoproliferative cronice
- greţuri, vărsături, tulburări de tranzit în anemia feriprivă, Biermer, neoplazii hematologice (limfoame ale tractului digestiv).

3. Crize hemolitice acute

- astenie instalată brusc, cu stare de rău general, lombalgii, febră, frisoane, oligoanurie

4. Sindrom hemoragipar

- ***sângerări cutaneo-mucoase***
  - purpura (peteşială, echimotică, nodulară, necrotică)
  - bule hemoragice bucale

- ***sângerări exteriorizate***
  - epistaxis, gingivoragii, hemoptizii
  - hematemeze, melenă, rectoragii
  - hematurii
  - meno-metroragii
- ***sângerări interne***
  - hematoame, hemartroze, hemoragii retiniene
  - cerebro-meningee

5. Manifestări osteo-articulare

- dureri osoase şi osteo-articulare – prezente în neoplazii
  - simptom major care ocazionează adesea diagnosticul de mielom
  - apar şi în metastazele osoase de la neoplasme solide
  - prezente în leucemiile acute – simptom de activitate medulară crescută
  - prezente la pacienţii trataţi cu factori de creştere (G-CSF, GM-CSF)
- dureri articulare cu afectarea mobilităţii articulare – accidentele hemoragice articulare (hemartroze) în hemofilie

6. Prurit cutanat

- pruritul aquagenic – survine după expunerea la apă caldă - este semnalat adesea la pacienţii cu poliglobulie primitivă
- prurit fără particularităţi – semnalat la pacienţii cu boala Hodgkin. Poate asocia dureri ganglionare după ingestia de alcool.

7. Semne generale

Sunt semne generale nespecifice, traducând o activitate metabolică crescută. Semnalate adesea în neoplaziile hematologice, indică activitatea acestora :

- febră/subfebrilităţi fără focar infecţios evident
- transpiraţii importante, predominant vesperale şi noctune
- scădere ponderală

EXAMENUL OBIECTIV

Examenul obiectiv va furniza date fizice care se referă la o serie de modificări de ansamblu, precum şi la nivelul de afectare a diferitelor aparate şi sisteme, modificări generate de afectarea componentelor sistemului hematopoietic.

1. Starea generală

- poate fi bună, influenţată, alterată, în funcţie de răsunetul patologiei care motivează internarea
- poate fi evaluată prin sistemele ECOG/WHO sau Karofsky (vezi capitolul Limfoame maligne non-hodgkiniene)
- util în evaluarea prognosticului în neoplaziile hematologice

2. Starea de conştienţă

- poate fi păstrată sau alterată în diferite proporţii, mergând de la obnubilare la coma profundă
- atenţie la sindroamele de hipervâscozitate (din mielomul multiplu sau poliglobulia primitivă) din anemiile severe cu instalare rapidă, din tulburările electrolitice (hipercalcemie...) – constituie urgenţe terapeutice.

3. Facies

- cu aspect mongoloid, cu oasele craniene disproporţionate în exces faţă de oasele faciesului, creând aspectul de "craniu în turn", cu nas lăţit şi micrognaţie - în anemiile hemolitice congenitale, predominant *thalassemia major*
- cu aspect palid cu diferite nuanţe - în anemii
- eritrozic, asociind eritroza mucoaselor şi a celorlalte extremităţi - în poliglobulia primitivă
- edemaţiat şi eritrozic – în sdr de compresiune pe vena cavă superioară, în caz de adenopatii mediastinale compresive.

4. Tegumente şi mucoase

- ***Paloarea***
  - cu nuanţă galbenă ca lămâia, cu aspect cerat infiltrativ, eventual subicter scleral – anemia megaloblastică prin deficit vitaminic
  - cu nuanţă albicios-transparentă sau verzuie – anemia hipocromă, microcitară, feriprivă
  - cu nuanţă albă "ca varul" - în anemiile post-hemoragice acute
  - cu nuanţă gălbui-icterică şi subicter/icter scleral - în anemiile hemolitice
  - cu nuanţă galben-murdară - în anemiile paraneoplazice
  - cu nuanţă cafenie - în endocardita infecţioasă, în insuficienţa renală
  - cu nuanţă cenuşie - în hemocromatoză
- ***Eritroza***

  - coloraţie roşie predominant la extremităţi (cefalică, mâini, picioare) şi a sclerelor şi mucoaselor - în poliglobulia primitivă
  - coloraţie roşie generalizată ("omul roşu") – din leucemia limfatică cronică
  - coloraţie roşie cu tonalitate variabilă, cu descuamări şi alte leziuni izolate - în limfomul cutanat cu celule T (mycozis fungoides)
- ***Purpura*** - este un sindrom clinic caracterizat prin prezenţa de pete hemoragice roşii-violacee care nu dispar la vitropresiune, nedureroase, datorate extravazării, aparent spontane, a sângelui în tegumente şi mucoase. Ele pot evolua în pusee (debut la membrele inferioare şi extensie pe trunchi) şi dispărea în câteva zile cu modificări de culoare în funcţie de degradarea hemoglobinei (roşu-violaceu - verde - galben). Sunt descrise cinci tipuri de purpure :
  - peteşială - pete purpurice mici, rotunde, bine delimitate ;
  - echimotică - pete hemoragice mai mari, cu contur mai imprecis ;
  - vibicii - purpură lineară situată la nivelul pliurilor de flexie ;
  - nodulară - purpură de tip infiltrativ ;
  - necrotică - peteşii sau echimoze cu zone de necroză.
- ***Telangiectaziile***
  - Malformaţie vasculară congenitală, cu transmitere dominant autozomală, caracterizată prin subţierea peretelui vascular, diminuarea suportului vascular şi scăderea contractilităţii în telagiectazia hemoragică ereditară Rendu-Osler.
  - Vasele afectate (la nivelul tegumentelor şi mucoaselor) devin dilatate, sinuoase şi dezorganizate şi, datorită fragilităţii lor, cu sângerari spontane la traumatisme minore.
  - Telangiectaziile au dimensiuni de la un vârf de ac la 3 mm, cu aspect de pete roşii sau purpurii, rotunde, bine delimitate, ce dispar la vitropresiune, uneori cu aspect de păianjen (mai ales la cei mai în vârstă - apar în jur de 40 ani şi numărul lor creşte cu vârsta).
  - Au o dispoziţie caracteristică la nivelul feţei, buzelor, limbii, urechilor, conjunctivelor, palmelor, pulpelor degetelor, plantelor. Sunt prezente la nivelul mucoaselor digestivă, nazală, bronşică, laringiană, genitală.
- ***Leucemidele*** – noduli roşii-violacei sensibili, la nivelul trunchiului şi pielii scalpului – survin în leucemiile acute
- ***Leziunile de grataj*** - în patologiile cu prurit intens, precum poliglobulia primitivă şi boala Hodgkin
- ***Ulcerele gambiere*** - în anemiile hemolitice ereditare

5. Cavitatea bucală

- ***Stomatita angulară*** (ragade comisurale) – survine în anemia feriprivă, diabet şi infecţia streptococică
- ***Modificările buzelor***
  - palide - în anemii
  - roşii - în poliglobulii
  - cu telangiectazii - în boala Rendu-Osler

- ***Modificările limbii***
  - glosită Hunter : arsuri linguale accentuate de alimentele calde şi picante, limbă lucioasă, depapilată, iniţial la vârf şi pe margini, ulterior generalizată
  - glosită din anemia feriprivă - aspect atrofic lucios în jumătatea anterioară a limbii
  - bule hemoragice - în trombocitopenii
- ***Modificările gingiilor***
  - gingivoragii, peteşii – diateze hemoragice
  - hipertrofie gingivală, uneori cu acoperirea dentiţiei şi chiar edentaţie - în leucemiile acute mieloblastice
  - gingivită ulcero-necrotică - în leucemiile acute, aplazia medulară
- ***Modificările mucoasei jugale***
  - paloare - în anemii
  - eritroză - în poliglobulii
  - peteşii, bule hemoragice - în diateze hemoragice
- ***Modificările amigdalelor***
  - hipertrofie amigdaliană - fie infecţioasă/inflamatorie, fie infiltrativ-tumorală în leucemii acute, limfoame maligne
  - angină ulceronecrotică cu ulceraţii, sfaceluri, sângerări, depozite cenuşii cu extensie spre pilieri şi vălul palatin, în leucemiile acute, aplaziile medulare

6. Fanerele

- unghii friabile, striat cu aspect plat (platonichie) sau concav (coilonichie) – anemie feriprivă
- păr friabil, fară luciu – anemie feriprivă
- alopecie – pacienţi cu terapie citostatică

7. Tesut celular subcutanat

- păstrat adesea
- diminuat până la dispariţie în bolile neoplazice
- edeme predominant la membrele inferioare - în anemiile severe

8. Aparatul locomotor

- anomalii scheletale (nanism, microcefalie, hipoplazie sau absenţă a policelor sau radiusului, degete suplimentare) - în aplaziile congenitale
- modificări articulare – deformări, anchiloze, atrofii musculare de vecinătate - în hemartrozele acute şi artropatia cronică la hemofilici
- leziuni tumorale osoase – plasmocitom

9. Examenul sistemului limfoganglionar

– vezi capitolul **Adenopatii**

10. Examenul splinei şi ficatului

– vezi capitolul **Splenomegalia**

11. Examenul aparatului respirator

- hemoptizii în diatezele hemoragice
- sdr pleural sau de condensare pulmonară - în leucemii, limfoame
- tulburări respiratorii obstructive – leziuni tumorale mediastinale în limfoamele agresive, leucemia acută limfoblastică

12. Examenul aparatului cardio-vascular

- tahicardie, sufluri sistolice, insuficienţă cardiacă - în anemii
- hipotensiune, şoc în anemii hemoragice acute, în complicaţii infecţioase
- insuficienţă cardiacă restrictivă în hemocromatoză

13. Examenul aparatului digestiv

- splenomegalie
- hepatomegalie
- mase tumorale abdominale
- tulburări tranzit

14. Examen aparat excretor

15. Exămen SNC, organe de simţ

- tulburări ale ROT, pareze, plegii - în deficitul de vitamina B12, leucemii acute limfoblastice (infiltrare SBC), limfoame cerebrale, mieloame cu leziuni vertebrale şi compresie medulară.

ADENOPATII – CONDUITA DIAGNOSTICĂ

GANGLIONII – GENERALITĂŢI

Ganglionii limfatici aparţin sistemului limfoid şi reprezintă organe limfoide secundare. In organism, există numeroşi ganglioni care sunt dispuşi superficial şi profund. Ei sunt interconectaţi prin reţeaua circulatorie limfatică. Astfel, fiecare ganglion dispune de vase limfatice aferente şi eferente, ca şi de vascularizaţie sanguină. Ganglionii joacă un rol de filtru, drenând limfa dintr-un anumit teritoriu anatomic. Fiecare teritoriu dispune de un astfel de releu ganglionar. Cunoaşterea fiecărui grup ganglionar cu teritoriul pe care îl deserveşte, permite căutarea punctului de plecare pentru evenimentul care conduce la apariţia adenopatiilor.

Din punct de vedere structural, ganglionii sunt înconjuraţi de o capsulă fibroasă care trimite trabecule în parenchimul ganglionar formând o reţea fibroasă de susţinere.

Parenchimul prezintă două compartimente : unul periferic – corticala, şi unul central – medulara. Populaţia celulară este formată în cea mai mare parte din limfocite, la care se asociază macrofagele şi celulele dendritice. Limfocitele se structurează în foliculi limfatici, formaţi predominant de limfocite B, şi zone interfoliculare, formate predominant din limfocite T.

La nivelul ganglionilor are loc prima etapă a răspunsului imunitar, cu rol major în apărarea organismului şi eliminarea structurilor non-self :

- celulele macrofagice captează structurile non-self (germeni, celule…), le prelucrează şi prezintă antigenul structurilor limfoide;
- limfocitele T şi B cooperează cu activare şi expansiune clonală, ducând la răspunsul imun umoral şi celular;
- cooperarea între macrofag-limfocite T-limfocite B necesită prezenţa antigenelor de histocompatibilitate de tip I şi II, citokine, alte celule.

ADENOPATII SUPERFICIALE – GENERALITĂŢI

In prezenţa unei adenopatii superficiale, trebuie avute în vedere principalele ipoteze diagnostice şi justificarea examenelor complementare pertinente:

- ganglionii sunt organe limfoide ce reprezintă sediul dezvoltării răspunsului imunitar;
- adenopatia este un ganglion palpabil în plan clinic;
- adenopatia poate fi martorul :
  - unui proces infecţios, inflamator sau tumoral, dezvoltat într-un teritoriu în care ganglionul respectiv asigură drenajul (adenopatie localizată);
  - unui proces inflamator sau tumoral mai generalizat (poliadenopatii din infecţii virale, leucemii).

MECANISME

Mărirea de volum a ganglionilor limfatici se poate datora mai multor mecanisme :

- *o proliferare limfocitară reactivă (« fiziologică »)* la stimularea antigenică loco-regională (infecţioasă sau tumorală) sau generală (infecţioasă sau disimună) ;
- *o acumulare de polimorfonucleare şi/sau histiocite* – celule epiteliale şi gigante - în cadrul reacţiilor inflamatorii acute sau cronice ;
- *o proliferare tumorală monoclonală* a celulelor limfoide rezidente în ganglion (sindroame limfoproliferative) ;
- *invadarea ganglionară* de către celule tumorale nelimfoide (metastaze ganglionare).

Toate aceste contexte patologice pot antrena modificări histologice/citologice la nivelul ganglionilor implicaţi – modificarea foliculilor şi zonelor interfoliculare prin spaţiul pe care îl ocupă (expansiune) sau a celulelor pe care le conţin (diferite tipuri de limfoame maligne), apariţia de celule non-ganglionare, germeni, ştergerea arhitecturii ganglionare prin înlocuirea acesteia cu un proliferat difuz de celule atipice. In anumite cazuri, capsula poate fi ruptă, cu invadarea ţesuturilor adiacente.

CIRCUMSTANŢE DIAGNOSTICE

Adenopatia reprezintă creşterea de volum a unui ganglion sau grup ganglionar care devine palpabil la examenul clinic, sau chiar vizibil la inspecţie. In general, se consideră patologic un ganglion al cărui ax longitudinal depăşeşte 1 cm.

Adenopatiile apar ca tumefieri de formă rotundă sau ovalară, dispuse în teritoriile recunoscute ca sedii ganglionare :

- ✓ occipital, retroauricular
- ✓ submaxilar, sublingual
- ✓ laterocervical posterior (spinal) şi anterior (jugulo-carotidian)
- ✓ supraclavicular
- ✓ axilar
- ✓ epitrohlean (rar)
- ✓ inghinal, triunghiul lui Scarpa

Orice ganglion palpabil trebuie considerat ca fiind patologic şi să determine iniţierea unei conduite diagnostice.

1. Circumstanţele de descoperire a unei(or) adenopatii

- ***Descoperirea spontană, de către pacient*** – pacientul sesizează tumefierea unei regiuni (adesea laterocervical sau inghinal) şi solicită consult de specialitate.
- ***Prezenţa unui context clinic evocator*** – sindrom febril, sindrom infecţios, splenomegalie, hepatomegalie, sindrom consumptiv, transpiraţii abundente, predominant vesperale şi nocturne, alterarea stării generale.
- ***Prezenţa unui context biologic evocator*** – citopenii variabile sau prezenţa de celule atipice la un examen hematologic.
- ***Prezenţa unei complicaţii*** – sindrom de compresiune superficială sau profundă sugerând adenopatii profunde (sdr de venă cavă superioară, sdr de compresiune pe vasele iliace…);
- ***Descoperire fortuită*** – la un examen clinic şi/sau echografic sistematic, în contextul unei afecţiuni intercurente sau examen de bilanţ periodic.

2. Diagnostic clinic

⇨ ***Inspecţia*** – în funcţie de volumul şi numărul adenopatiilor ca şi de exinderea lor, se poate evidenţia deformarea simetrică sau asimetrică a teritoriilor menţionate mai sus.

⇨ ***Palparea*** – se impune palparea tuturor teritoriilor ganglionare, atât a celor evidente la inspecţie, cât şi a celorlalte. Se asociază examinarea abdomenului pentru căutarea hepatomegaliei şi/sau splenomegaliei. Se vor urmări caracteristicile principale – număr, dimensiuni, consistenţă, sensibilitate, mobilitate pe structurile superficiale şi profunde, modificări ale ţesuturilor suprajacente.

3. Erori de diagnostic

➢ ***Prin exces*** – confundarea unui ganglion normal cu o adenopatie. La copii, la persoanele cu un ţesut celular subcutanat slab rebrezentat, ganglionii normali pot deveni palpabili antrenând investigaţii.

➢ ***Prin omisiune*** – un examen clinic mai rapid, superficial, mai ales la persoane cu un panicul adipos abundent, poate trece cu vederea peste adenopatii prezente. Atunci când contextul este sugestiv, se impune un examen echografic al regiunilor respective pentru evidenţierea ganglionilor.

4. Diagnostic diferenţial

Câteva contexte impun diferenţierea de adenopatii :

- *Glande submaxilare* hipertrofiate
- *Parotida* hipertrofiată
- *Lipoame* – sunt superficiale, consistenţă moale, adesea aderente pe structurile superficiale, prezente şi în teritorii care nu conţin ganglioni
- *Chist branhial* – situat în regiunea cervicală. Echografia şi puncţia permit diferenţierea
- *Apofiză cervicală transversă* prea lungă sau coastă cervicală - radiografia toracică şi de coloană permit diferenţierea
- *Anevrism carotidian* – caracter pulsatil
- *Hidrosadenită* - situată axilar, asociind caractere inflamatorii şi care fistulizează cu eliberare de puroi. Stafilococ adesea prezent în secreţie
- *Hernie inghinală sau crurală* - mobil la efortul de tuse

ETIOLOGIE

1. Adenopatii infecţioase

1.1. Infecţii bacteriene – antrenează adesea implicări localizate, mai rar poliadenopatii. Se poate asocia cu un tablou infecţios. Va fi examinat teritoriul de drenaj corespunzător pentru a identifica poarta de intrare.

- ***Adenita bacteriană cu piogeni (adenoflegmon)*** – adesea, punctul de intrare (plagă cutanată) este evident. Localizarea depinde de poarta de intrare. Se asociază şi o limfangită care uneşte poarta de intrare cu adenopatia satelită. Adenopatia are dimensiuni variabile, este moale, dureroasă, are tendinţă la fixare. Uneori, prezintă aspect fluctuent putând fistuliza. Puncţia evidenţiază puroi care va fi analizat bacteriologic.
- ***Bruceloza*** – survine în context profesional sugestiv (agricultură, zootehnie). Asociază semne infecţioase cu febră, transpiraţii şi adenopatii generalizate. Diagnosticul se face pe baza examenului bacteriologic al puncţiei ganglionare.
- ***Tularemia*** – determinată de un germene Gram-pozitiv transmis de rozătoare prin infectarea unei plăgi cutanate. Evoluează cu ulceraţie la punctul de contact şi adenită inflamatorie satelită. Diagnosticul – cultură din plagă şi examen serologic.
- ***Boala ghearelor de pisică*** – agenţii cauzali sunt *Rochalimea henselae* şi *Afipia felis* transmise prin zgârieturi de pisică sau spini de plante. Determină o adenită supurată satelită. Diagnosticul este bacteriologic (puncţie ganglionară) şi serologic.
- ***Tuberculoza ganglionară*** – este adesea localizată, predominant cervical. Survine la imunodeprimaţi (SIDA, transplant), mai rar la cei sănătoşi. Poate fi primitivă sau asociată unei localizări respiratorii, renale sau osoase. Intradermoreacţia la tuberculină este adesea

flictenulară. Biopsia evidenţiază cazeum, care, pus în cultură sau inoculat la animale, permite diagnosticul. Evoluţia mai îndelungată antrenează fistulizare.

- ***Sifilisul*** – adenopatia poate apărea în faza primară ca adenopatie satelită a şancrului de inoculare (adenopatie izolată, unilaterală, neinflamatorie) sau în sifilisul secundar (adenopatii cervicale şi, mai ales, occipitale sau ca poliadenopatii generalizate, asociind erupţii cutanate de tip rozeolă sau sifilide papuloase).

1.2.Infecţii virale

- ***Mononucleoza infecţioasă*** – debut infecţios faringo-amigdalian, asociind adenopatii (predominant laterocervicale), hipertrofie a inelului Waldayer, hepato-splenomegalie şi hemogramă modificată cu leucocitoză şi prezenţa unor celule limfo-monocitoide (mononucleozice). Diagnosticul este serologic, prin evidenţierea de anticorpi de tip IgM anti-virus Ebstein-Barr.
- ***Virusul citomegalic*** – sdr mononucleozic ce survine adesea la imunodeprimaţi. Diagnosticul este virusologic (viremie) şi serologic.
- ***Febrele eruptive*** – rubeola asociază adenopatii - manifestările eruptive sunt adesea sugestive.
- ***VIH*** – splenomegalia se poate datora virusului sau patologiilor asociate (infecţioase sau tumorale). Asociază poliadenopatii, febră, transpiraţii nocturne, sdr diareic prelungit. Biologic, se constată citopenii, limfopenie, scăderea raportului CD4/CD8, anergie cutanată.

1.3.Infecţii micotice

- ***Candidoza, Aspergiloză*** - diagnosticul este serologic sau citologic, bazat pe puncţia-biopsie.

1.4. Infecţii parazitare

- ***Toxoplasmoza*** – la individul imunocompetent antrenează splenomegalie discretă, adenopatii occipitale, epitrohleene. Hemograma evidenţiază limfocitoză cu prezenţa de celule hiperbazofile şi eozinofilie. Diagnosticul este serologic, prin punerea în evidenţă de anticorpi de tip IgM. Apariţia lor se produce la 7-10 zile de la debut. Biopsia ganglionară nu este necesară. Aspectul histologic este de ganglion inflamator cu numeroase macrofage.

2. Adenopatii disimunitare

Acestea pot fi evocate în contextul asocierii adenopatiilor cu splenomegalie, sdr (sub)febril prelungit, manifestări articulare, cutanate, musculare şi/sau renale.

- ***Lupusul eritematos diseminat (LED)*** – adenopatiile sunt discrete şi se localizează predominant la nivel cervical. Fac parte dintr-un tablou clinico-biologic mai complex cu atingere multiorganică. Asociază citopenii autoimune : anemie hemolitică, leucopenie. Testele inflamatorii pozitive sugerează diagnosticul care este confirmat de evidenţierea anticorpilor anti-ADN nativi.

▪ ***Sindromul Gougerot-Sjogren*** – asociază adenopatie generalizată, predominant cervicală. Prezenţa lor impune biopsie ganglionară datorită riscului apariţiei, în evoluţia bolii, a unui limfom malign non-hodgkinian.

▪ ***Saroidoza*** – se prezintă adesea cu adenopatii intratoracice, predominant în hilul pulmonar. Poate asocia adenopatii superficiale. Cele epitrohleene sunt sugestive pentru diagnostic. Biopsia ganglionară evidenţiază granuloame epitelioide şi gigantocelulare, similar celor din tuberculoză, dar cu absenţa cazeumului. Radiografia toracică poate fi sugestivă.

3. Adenopatii în hemopatiile maligne

Un context patologic particular, nu foarte rar, mai ales după vârsta de 40 ani, asociind splenomegalie, adenopatii, eventual febră, alterarea stării generale, îl reprezintă hemopatiile limfoide care nu trebuie neglijate. Se impune analiza hemogramei şi, atunci când este cazul, biopsie ganglionară.

▪ ***Leucemia limfatică cronică*** - splenomegalie +/- poliadenopatii generalizate, mici, elastice, mobile, nedureroase. Hemograma (leucocitoză cu limfocitoză peste 10.000/mm^3) şi mielograma (infiltrarea măduvei cu peste 30% limfocite cu morfologie normală) şi imunofenotiparea limfocitelor tumorale (CD19+, CD5+, CD23+, CD10-) permit stabilirea diagnosticului.

▪ ***Leucemia cu prolimfocite*** – sindromul tumoral este mai voluminos cu hiperleucocitoză majoră şi aspect morfologic celular sugestiv.

▪ ***Boala Hodgkin*** – debut la vârste între 20-40 ani, predominant ganglionar. Majoritatea cazurilor se prezintă cu adenopatii laterocervicale, supraclaviculare, axilare. Adenopatiile sunt asimetrice, având consistenţă fermă, cartilaginoasă. Asociază prurit, dureri ganglionare la ingestia de alcool, semne generale (febră, transpiraţii, scădere în greutate). Diagnosticul este stabilit prin biopsie ganglionară care pune în evidenţă celula Sternberg-Reed.

▪ ***Limfoamele non-hodgkin*** – implicarea ganglionară este pe primul plan. Adenopatiile pot fi localizate sau generalizate, moi-elastice în formele de joasă malignitate, dur-ferme, nedureroase, cu tendinţă la fixare sau la compresiune de vecinătate în formele agresive. Diagnosticul impune biopsia ganglionară, cu analiza morfologică, imuno-histochimică şi citogenetică a materialului prelevat. Uneori, limfomul se află în stadiu generalizat cu descărcarea de celule limfomatoase în sângele periferic, putând preta la confuzii cu LLC. Imunofenotipajul celulelor tumorale tranşează diagnosticul. Există limfoame splenice pure. Atunci când nu descarcă celule patologice în circulaţie, se impune splenectomia diagnostică.

▪ ***Leucemia cu tricoleucocite*** – se caracterizează prin splenomegalie voluminoasă, cvasiconstantă, adenopatii superficiale, rar pancitopenie cu eventuala prezenţă a celulelor tipice – celule limfoide cu nucleu reniform, cu citoplasmă bogată, cu prelungiri periferice numeroase, foarte fine şi uniform reprezentate. Mielograma poate fi albă, datorită fibrozei medulare reticulinice asociate. Se impune biopsia medulară, care evidenţiază o măduvă bogată şi infiltrată cu tricoleucocite. Imunofenotipajul (CD11c+, CD25+, CD103+) este sugestiv.

▪ ***Leucemiile acute*** – predomină manifestările determinate de sindromul anemic, infecţios şi/sau hemoragic. Adenopatiile sunt prezente în formele limfoblastice cu adenopatii mici, mobile, nedureroase, asimetrice. Adenopatiile pot fi prezente în formele mieloblastice M4 şi M5, luând forme tumorale ce pretează la confuzii diagnostice. Hemograma şi mielograma permit diagnosticul. Biopsia ganglionară nu este necesară.

▪ ***Boala Waldenstrom*** – proliferare de celule limfo-plasmocitare cu adeniopatii, splenomegalie, infiltrare medulară, prezenţa unui pic monoclonal cu IgM cu proprietăţi de auto-anticorp (frecvent neuropatie).

▪ ***Leucemia granulocitară cronică*** – apariţia adenopatiilor semnifică, adesea, evoluţia spre accelerare şi acutizare.

4. Adenopatii metastatice

Ganglionii pot fi invadaţi de celule neoplazice cu diferite puncte de plecare. Adesea, invazia este locoregională, pe teritoriile de drenaj, uneori invazia putând fi generalizată. Adenopatiile sunt, în general, mici, dure, nedureroase, cu tendinţă la fixare pe structurile profunde şi/sau superficiale. Puncţia ganglionară permite evidenţierea de celule neoplazice (placarde de celule cu aspect non-hematologic). Este necesară cunoaşterea ariei de drenaj pentru fiecare grup ganglionar, pentru a orienta căutarea punctului de plecare.

ATITUDINE PRACTICĂ

În cazul diagnosticării unei/unor adenopatii, demersul în vederea diagnosticului etiologic parcurge aceleaşi etape ca pentru orice patologie : anamneza, examen clinic, investigaţii paraclinice.

1. Anamneza

▪ vârsta, originea etnică - orientează spre anumite patologii : copil, adolescent → patologie infecţioasă / adolescent, tânăr → boală Hodgkin / adult, vârstnic → LMNH/ peste 60 ani → LLC;

▪ contactul cronic cu anumite toxice (profesional sau nu) – patologia proliferativă;

▪ context epidemiologic pentru anumiţi agenţi infecţioşi – boala ghearelor de pisică, bruceloză;

▪ comportament sexual, consum droguri – infecţii cu HIV sau HTLV-I, sifilis ;

▪ prezenţa unui sindrom infecţios – sugerează adenopatii infecţioase;

▪ prezenţa unui sindrom febril prelungit, eventual nesistematizat, asociat cu transpiraţii, scădere ponderală – adenopatii în cadrul unor proliferări maligne sau infecţii cronice (tuberculoză, sifilis, Candida) ;

▪ antecedente medicale sau chirurgicale/traumatice recente sau vechi (posibilă poartă de intrare) ;

▪ data apariţiei sau descoperirii adenopatiei (lor) ;

▪ evoluţia adenopatiilor – menţinerea volumului, evoluţie ondulatorie (creştere-descreştere), eventual ritmată de episoadele infecţioase, creştere progresivă;

▪ asocierea de semne generale – febră, transpiraţii, prurit, scădere ponderală;

- tratamente urmate anterior.

2. Examenul clinic

2.1.Examinarea tuturor ariilor ganglionare cu evidenţierea caracterelor adenopatiilor

- ***Localizare*** : adenopatii izolate, localizate/poliadenopatii generalizate (***Tabel 1***)
- ***Evoluţie*** : acută/cronică (***Tabel 1***)
- ***Teritoriu*** – impune cunoaşterea ariilor de drenaj limfatic pentru a căuta leziunea infecţioasă sau tumorală care stă la originea adenopatiilor, mai ales în cazul celor izolate (***Tabelul II***)
- ***Dimensiuni*** – important pentru limfoproliferările cu masă tumorală mare (« bulky disease »)
- ***Consistenţa (orientativ)*** – moale-elastică → infecţii, limfoproliferări de joasă malignitate/ fermă-cartilaginoasă → boală Hodgkin/ fermă-dură → LMNH agresive/, foarte dură → metastaze

***Tabel* 1**

ETIOLOGIA ADENOPATIILOR	
Adenopatii izolate acute	**Adenopatii izolate cornice**
Adenite inflamatorii satelite Adenite supurate (germeni piogeni)	Tuberculoza ganglionară Tularemie Infecţie HIV Boala Hodgkin Limfoame non-hodgkin Metastaze ganglionare
Poliadenopatii acute	**Poliadenopatii cronice**
Mononucleoza infecţioasă Bruceloza Rubeola Toxoplasmoza Leucemiile acute	Tuberculoză ganglionară Infecţii cu micobacterii atipice Tularemie Sifilis secundar Infecţie HIV Infeţii fungice Boala Hodgkin LLC Leucemie cu prolimfocite Limfoame non-hodgkin Metastaze ganglionare Sarcoidoză Colagenoze Manifestări imunoalergice la medicamente

- ***Mobilitatea*** pe ţesuturile profunde şi superficiale – tendinţa la fixitate semnifică depăşirea capsulei ganglionare de către procesul inflamator sau/şi proliferativ.
- ***Sensibilitatea şi modificările ţesuturilor suprajacente*** (eritem, caldură) – prezenţa lor poate sugera un proces infecţios, dar nu trebuie uitat contextul unei proliferări cu sdr inflamator supra-adăugat care să preteze la confuzie diagnostică.

* Trebuie subliniat faptul că teritoriul supraclavicular reprezintă o situaţie particulară. Dacă, pentru celelalte teritorii, o etiologie benignă este sugerată pe primul plan, localizarea supraclaviculară sugerează, în primul rând, posibilitatea unei patologii neoplazice care trebuie eliminată. Prezenţa adenopatiilor în acest teritoriu obligă la căutarea unei boli Hodgkin, a unui LMNH, a unor metastaze cu punct de plecare mediastinal, bronhopulmonar sau subdiafragmatic – digestiv (ganglionul Troisier), renal, ovarian, uterin, testicular. Biopsia ganglionară este obligatorie.

***Tabel* 2**

DIAGNOSTIC ORIENTATIV ÎN ADENOPATIILE IZOLATE	
Aria ganglionară	**Teritoriul de drenaj limfatic**
Submaxilar/sublingual	Cavitatea bucală Sfera stomatologică
Latero-cervical	Scalp Amigdale Sinusuri Baza de limbă Tiroidă
Axilar	Membrul superior Sân
Supraclavicular *	Mediastin Bronşii Etajul subdiafragmatic (digestiv, renal, genital)
Inghinal	Membrul inferior Organele genitale externe Regiunea anală

2.2. Examen clinic complet :

- greutate, temperatură
- se caută :
  - o splenomegalie, o hepatomegalie, un sdr tumoral abdominal
  - o faringită, angină
- răsunetul adenopatiilor profunde : sdr compresiv (sdr de venă cavă superioară, icter, colică nefretică …).
- examen cutanat

3. Investigaţii

3.1. Hemograma – este prima investigaţie de realizat şi care poate orienta diagnosticul. Rezultatul poate fi

a. foarte sugestiv :

- sindrom mononucleozic → investigaţii în eventualitatea unei infecţii virale;
- leucocitoză cu limfocitoză → investigaţii în eventualitatea unei LLC, leucemii cu prolimfocite

- prezența de celule limfoide atipice → posibil LMNH cu descărcare periferică sau leucemie cu tricoleucocite. Imunofenotipajul are mare valoare dignostică. Biopsia ganglionară se impune când se asociază adenopatii accesibile.
- anemie, trombocitopenie, prezența de blaşti şi hiatus leucemic → leucemie acută
- leucocitoză cu monocitoză→ posibil leucemie mielo-monocitară cronică

b. puțin sugestiv → *impune investigații bacteriologice/serologice/histologice*

- pancitopenie → posibil leucemie cu tricoleucocite, LMNH cu infiltrare medulară, leucemie acută cu formă aleucemică, hipersplenism...
- bicitopenii variabile → posibil colagenoză
- leucocitoză cu neutrofilie → posibil infecții bacteriene, sdr mieloproliferative, LMNH T, boală Hodgkin…
- eozinofilie → posibil reacție imuno-alergică medicamentoasă
- trombocitoză→ sdr mieloproliferativ, boli inflamatorii cronice

c. nesugestiv – hemogramă normală sau citopenii nespecifice

3.2. Mielograma – utilă în confirmarea sugestiei dată de analiza hemogramei (sugestive), este absolut necesară în ultimile două situații pentru a orienta diagnosticul:

- dacă în măduvă apar celule atipice, se asociază imunofenotipajul şi examenul citogenetic →hemopatii limfoide, hemopatii mieloide, boala Waldenstrom, boli de stocaj ;
- dacă măduva este normală→ cauza este periferică, adesea hipersplenismul este asociat splenomegaliei;
- dacă măduva este relativ normală, dar cu suspiciunea unei proliferări hematologice sau nehematologice → se va practica biopsia medulară;
- dacă măduvă are un aspect foarte sărac la mielogramă → se va practica biopsia medulară.

3.3. Examene biochimice/imunologice – căutarea unui sdr inflamator

- electroforeza → hiperglobulinemie monoclonală (Waldenstrom), hipergamma-globulinemie policlonală (leishmanioză), hipogamma-globulinemie (sdr limfoproliferative)
- VSH
- fibrinogen
- teste hepatice → hepatopatii cronice
- serologii → virale, fungice, parazitare → obligatoriu IDR la tuberculină şi determinare IgM anti-toxoplasmă
- teste imunologice pentru diagnosticarea colagenozei

3.4. Examene imagistice – necesare pentru evidențierea eventualelor adenopatii şi/sau alte mase tumorale profunde :

- CT toraco-abdomino-pelvin
- radigrafie toracică (față şi profil)
- echografie abdominală

3.5. Examen ganglionar

➢ ***Puncția ganglionară*** – permite examenul citologic al aspiratului ganglionar. Este uşor de realizat, putând fi practicat la orice nivel spitalicesc. Se va aplica în caz de necesitate, când urgența terapeutică impune o orientare rapidă. Puncția poate fi diagnostică în caz de infecții bacteriene (extragerea de material purulent, care poate fi analizat microscopic şi însămânțat), infecții tuberculoase (extragere de cazeum, care poate fi însămânțat şi inoculat), extragerea de celule tumorale non-hematologice (orientează spre o metastază ganglionară şi direcționează investigațiile spre găsirea tumorii inițiale). In restul cazurilor, biopsia este obligatorie.

➢ ***Biopsia ganglionară*** – este adesea indispensabilă pentru diagnostic.

- *Indicații :*

– la pacienții la care examenele biologice nu au permis orientarea etiologică ;

– la pacienții cu adenopatii cu aspect tumoral (voluminoase, nedureroase, eventual tendință la fixare) ;

– la cei la care adenopatia persistă peste 4 săptămâni de la primul examen ;

– la cei cu localizare supraclaviculară (de la început).

- *Reguli :*

– se va alege adenopatia cea mai reprezentativă (cu excepția celor unice)

– se preferă adenopatiile cervicale şi supraclaviculare

– se vor evita adenopatiile inghinale – supuse adesea remanierilor inflamatorii datorită afecțiunilor perineale frecvente (biopsie neconcludentă)

– după prelevare, ganglionul este secționat în două fragmente. Se fac apoziții pe lamă cu suprafețele de secțiune, pentru un examen citologic rapid. Un fragment este congelat şi va fi utilizat pentru imunohistochimie. Celălalt fragment est pus în fixator pe bază de formol, apoi prelucrat pentru un examen morfologic (microscopie) şi fenotipaj. Se pot asocia analize de tip cariotip, biologie moleculară, analize bacteriologice, virale.

SPLENOMEGALIA – CONDUITA DIAGNOSTICĂ

SPLINA – GENERALITĂȚI

Splina este un organ limfoid secundar, situat în etajul abdominal superior. Funcțiile splenice sunt :

➢ ***Funcția de filtru vascular*** – splina este un organ bogat vascularizat. Ea primeşte, prin artera splenică, aproximativ 5% din volumul sanguin circulant pe minut. La nivelul pulpei roşii există o foarte bogată rețea de capilare sinusoidale cu un diametru de 2 microni, la nivelul căreia circulația sanguină este încetinită. Aceste capilare au capacitatea, în funcție de necesități, să se închidă, aruncând în circulație un volum de 200-300 cm^3 de sânge (exemplu - în caz de şoc hemoragic), sau să se deschidă în caz de obstacol pe circulația din aval, în sistemul venos port (exemplu - în hipertensiunea portală), cu stocarea de celule sanguine şi diminuarea lor în circulație (anomalii de repartiție).

➢ ***Funcția de stocaj*** – splina poate stoca trombocite (30-40% din masa trombocitară circulantă), factor VIII, fier.

➢ ***Funcţia macrofagică*** - splina conţine o bogată reţea macrofagică, care, profitând de încetinirea circulaţiei la acest nivel, recunoaşte şi captează din circulaţie

- eritrocite îmbătrânite
- eritrocite cu relicve intracitoplasmatice de tip corpi jolly sau inele Cbot
- eritrocite cu alterări de membrană (microsferocitoza), cu hemoglobine anormale (talasemii, hemoglobinopatii), cu anomalii enzimatice (deficit G6PD), cu anticorpi fixaţi pe membrană, cu conţinut parazitar (paludism)
- monocite sau neutrofile cu germeni intracelulari
- agenţi infecţioşi sau structuri non-self aflate în circulaţie (funcţia de captare, prelucrare şi prezentare a antigenelor către elementele limfoide din pulpa albă).

➢ ***Funcţia imună*** - splina este un organ limfoid secundar bogat în limfocite B şi T cu rol esenţial în apărare.

➢ ***Funcţia hematopoietică*** - splina este un organ hematopoietic în cursul vieţii intrauterine, pentru ca, după naştere, funcţia să fie preluată integral de măduva osoasă. Pierderea funcţiei nu este ireversibilă, putând fi reactivată în contexte patologice (compensator în anemiile hemolitice cronice sau în osteomielofibroză).

SPLENOMEGALIA – CIRCUMSTANŢE DIAGNOSTICE

Splenomegalia reprezintă creşterea de volum a splinei care devine palpabilă la examenul clinic, în hipocondrul stâng. La examenul echografic abdominal se evidenţiază o splină al cărei ax longitudinal depăşeşte 140 mm. Orice splină palpabilă trebuie considerată ca fiind patologică şi să determine iniţierea unei conduite diagnostice.

Circumstanţele de descoperire ale unei splenomegalii :

- cel mai adesea, splenomegalia este indoloră
- poate fi descoperită datorită :
  - **prezenţei de semne funcţionale** – jenă sau durere în hipocondrul stâng, asociind sau nu iradiere în articulaţia scapulo-humerală stângă, senzaţia de plenitudine gastrică, senzaţia de saţietate precoce, dureri post-prandiale, balonări, tulburări de transit;
  - **prezenţei unui context clinic evocator** – sindrom febril, sindrom infecţios, adenopatii, hepatomegalie, sindrom icteric, semne de hipertensiune portală, hemoragii digestive, alterarea stării generale;
  - **prezenţei unui context biologic evocator** – citopenii variabile la un examen hematologic ;
  - **prezenţei unei complicaţii legate de splenomegalie** – infarct splenic, hematom subcabsular splenic, ruptură de splină;
  - **unei descoperiri fortuite** - la un examen clinic şi/sau echografic sistematic în contextul unei afecţiuni intercurente sau al unui examen de bilanţ periodic:
- apariţia complicaţiilor care pot fi revelatorii :
  - infarct splenic :
    - se manifestă prin dureri în flacul şi/sau baza toracelui stâng ;

    - febra este adesea prezentă;
    - echografia sau examenul CT confirmă diagnosticul;
  - ruptură de splină :
    - se manifestă cu un tablou de şoc hemoragic adesea precedat de dureri;
    - echografia sau examenul CT caută un hematom subcapsular splenic (ruptură în 2 timpi);
  - hipersplenism :
    - manifestări patologice legate de creşterea volumului splenic, indiferent de etiologie;
    - hipersplenismul se traduce prin :
      - ***anemie*** moderată, de obicei normocitară şi puţin regenerativă cu mecanisme multiple:
        - sechestrarea splenică a hematiilor (măsurabilă prin probe izotopice cu crom 51, tehnetiu 99);
        - exces de hemoliză (diminuarea duratei de viaţă eritrocitare);
        - poate fi agravată de hemodiluţie;
      - ***trombocitopenie*** adesea moderată (în general > 50.000/mm3), prin sechestrare splenică;
      - ***leuconeutropenie*** discretă, prin exces de marginaţie splenică;
  - hemodiluţie :
    - este inconstantă şi depinde de talia splenomegaliei;
    - pare a fi în raport cu creşterea debitului sanguin splenic, apoi cu volumul sanguin splahnic, cu hipovolemie eficace şi stimularea sistemului renină-angiotensină.
    - este responsabilă de o anemie falsă sau contribuie la majorarea unei anemii pre-existente.

* Răsunetul hemodinamic şi mai ales cardiac (insuficienţa cardiacă cu debit crescut) poate pune în discuţie, uneori, o splenectomie.

MECANISME

Mecanismele care determină creşterea de volum a splinei sunt multiple. Acestea pot fi comune sau se pot asocia în cadrul diferitelor contexte etiologice, potrivit funcţiilor splenice implicate.

- ***Creşterea presiunii în sistemul port sau în vena splenică*** determină în mod pasiv o splenomegalie congestivă (funcţia de filtru vascular);
- ***Creşterea sechestrării eritrocitare*** la nivel splenic cu creşterea volumului circulaţiei lente (funcţia de filtru vascular şi macrofagic);
- ***Creşterea activităţii macrofagice*** în procesele infecţioase şi inflamatorii (funcţia de filtru macrofagic);
- ***Hiperplazia splenică*** cu creşterea celularităţii limfoide (funcţia imunitară);
- ***Proliferarea celulară malignă*** (celule limfoide şi nelimfoide);

- ***Proliferarea celulară benignă*** (boli granulomatoase, tumori benigne de tipul fibroamelor, disembrioamelor);
- ***Supraîncărcarea*** în diferite boli metabolice (dislipoidoze, amiloidoze, hemocromatoze).

DIAGNOSTIC

1. Diagnostic clinic

⇨ ***Inspecţia*** - în funcţie de volumul splenic şi grosimea peretelui, se poate evidenţia deformarea asimetrică a abdomenului, predominant în hipocondrul stâng.

⇨ ***Percuţia*** – matitatea splenică depăşeşte limitele normale atât ascendent, cât şi descendent, coborând sub rebordul costal.

⇨ ***Palparea*** - în decubitul dorsal sau lateral drept, se evidenţiază o masă tumorală în hipocondrul drept care se continuă sub rebordul costal, are o poziţie superficială (anterioară), urmează mişcările respiratorii, are margină antero-internă crenelată şi nu prezintă contact lombar.

In funcţie de volumul splenic, splenomegaliile se împart în :

- *Splenomegalie grad I* (moderată) – polul inferior al splinei este palpabil sub rebordul costal, uneori doar în inspir profund.
- *Splenomegalie grad II* (voluminoasă) – splina este palpabilă în hemiabdomenul stâng, polul inferior ajungând la nivelul liniei ombilicale.
- *Splenomegalie grad III* (tumorală) – splina ocupă întreg abdomenul stâng, coborând până la pubis şi putând depăşi linia mediană.

Indiferent de împărţirea pe grade, aprecierea corectă va fi făcută prin măsurarea efectivă a axului longitudinal al splinei ce depăşeşte rebordul costal, completată de măsurarea globală la examenul echografic.

2. Diagnostic paraclinic (imagistic)

Examenele imagistice sunt mai ales utile în cazurile dificile (ascită, obezitate, masă tumorală în hipocondrul stâng de origine nedeterminată,...) şi permit :

- depistarea unor splenomegalii moderate dificil de palpat;
- diagnosticul diferenţial, mai ales în splenomegaliile cu poziţionare orizontală;
- măsurarea volumului splenic;
- evidenţierea unor anomalii splenice morfologice sau a altor leziuni abdomino-pelvine asociate, pentru orientarea diagnosticului etiologic.

Examenele ce pot fi efectuate :

- ***Radiografia abdominală pe gol***
  - mai puţin informativă pentru splină;
  - simplă sau după ingestia de apă gazoasă, are un interes moderat ;
  - vizualizează umbra splenică, împingând claritătile digestive, şi confirmă datele examenului clinic.

- ***Echografia abdomino-pelvină***
  - permite măsurarea dimensiunilor splinei, studiul structurii parenchimului splenic şi căutarea existenţei unor anomalii asociate (hepatomegalie, adenopatii profunde, semne de hipertensiune portală, tromboza venei porte sau suprahepatice) a căror existenţă poate orienta diagnosicul etiologic;
  - se consideră că splina este mărită de volum atunci când două din dimensiunile sale sunt anormale → valori normale : 12 - 14 cm pentru axul mare (sau lungimea), 4 - 8 cm pentru axul transversal (sau grosimea), 6 - 12 cm pentru axul antero-posterior (sau lăţimea).
- ***Tomografia computerizată*** - permite aprecierea modificărilor de structură splenică, vizualizarea sistemului port, evidenţierea altor leziuni, de dimensiuni mai mici ce au scăpat controlului echografic.
- ***Examene izotopice*** – scintigrama hepato-splenică, captarea splenică cu elemente figurate radiomarcate ce permit aprecierea volumului, dar mai ales a funcţiei splenice, eventual asocierea unor leziuni hepatice.

3. Diagnostic diferenţial

Diagnosticul diferenţial se pune în relativ puţine cazuri. Acestea vizează :

- *Ptoza splenică* - la copii şi subiecţii cu status nutriţional deficitar – percuţia şi, mai ales, echografia tranşează diagnosticul.
- *Epanşament pleural bazal stâng* – matitate la baza stângă, dar palparea, auscultaţia, radiografia toracică şi echografia precizează diagnosticul.
- *Rinichi stâng tumoral* – masă tumorală în hipocondrul stâng, dar situată posterior, cu contact lombar şi nu urmează mişcările respiratorii.
- *Tumoră de unghi splenic colon* – ca mai sus
- *Alte tumori* – chist mezenter, tumoră coadă de pancreas, tumoră gastrică lob hepatic stâng voluminos – examenele imagistice permit stabilirea diagnosticului.

ETIOLOGIE

1. Splenomegalii infecţioase

1.1. Infecţiile bacteriene septicemice – pot asocia o splenomegalie moderată, dar tabloul este dominat de febră, frisoane, eventual semne de localizare viscerală (punct de plecare sau localizare secundară). Asociază adesea hiperleucocitoză cu neutrofilie sau mielemie moderată. Se impun prelevări bacteriologice, inclusiv hemoculturi şi investigaţii serologice pentru depistarea agentului cauzal.

- ***Septicemie cu piogeni*** – asociază splenomegalie moderată, uneori dureroasă, hiperleucocitoză cu neutrofilie, prezenţa focarului iniţial, localizări secundare cutanate şi chiar splenice.
- ***Septicemii cu bacilli Gram negativi*** – punct de plecare digestiv sau urinar. Prezenţa splenomegaliei poate să semnifice risc de şoc endotoxinic.

- ***Septicemie cu germeni cu dezvoltare intracelulară*** (Salmonella, Brucella, Rickettsia, tularemia) – splenomegalie febrilă asociind leuco-neutropenie. In bruceloză, febra este ondulantă şi survine adesea la personae cu meserii cu risc.
- ***Endocardita infecţioasă*** - splenomegalie, sindrom febril persistent în context valvulopat cunoscut sau asociind sufluri cardiace absente anterior. Se impun hemoculturi şi echocardiografie.

1.2. Tuberculoza – poate apărea ca tuberculoză miliară (examenul radiologic toracic este sugestiv) sau ca tuberculoză a organelor hematopoietice (mielocultură pentru BK, IDR la tuberculină)

1.3. Infecţiile virale

- ***Mononucleoza infecţioasă*** - debut infecţios faringoamigdalian asociind adenopatii, hepato-splenomegalie şi hemogramă modificată cu leucocitoză şi prezenţa unor celule limfomonocitoide (mononucleozice). Diagnosticul este serologic prin evidenţierea de anticorpi de tip IgM anti-virus Ebstein-Barr.
- ***Hepatite acute*** – astenie marcată, hepatomegalie, icter, anomalii biologice hepatice (sindrom citolitic predominant). Diagnosticul este serologic.
- ***Virusul citomegalic*** – sdr mononucleozic ce survine adesea la imunodeprimaţi. Diagnosticul este virusologic (viremie) şi serologic.
- ***Febre eruptive*** – rubeolă, rujeolă, varicelă - manifestările eruptive sunt adesea sugestive.
- ***VIH*** – splenomegalia se poate datora virusului sau patologiilor associate (infecţioase sau tumorale). Asociază poliadenopatii, febră, transpiraţii nocturne, sdr diareic prelungit. Biologic, se constată citopenii, limfopenie, scădere raport CDt/CD8, alergie cutanată.

1.4. Infecţiile micotice

- ***Candidoza hepato-splenică*** - survine la imunodeprimaţi, mai ales la pacienţii cu leucemie acută sub tratament citostatic sau grefaţi. Infecţia devine manifestă la ieşirea din aplazie, cu febră prelungită, hepatomegalie, splenomegalie. Examenul echografic este sugestiv, evidenţiind leziuni nodulare multiple la nivel splenic şi hepatic. Diagnosticul este micologic (hemoculturi, puncţie hepatică ghidată) sau serologic.
- ***Histoplasmoză*** - diagnostic serologic sau citologic pe puncţia biopsie hepatică.

1.5. Infecţii parazitare

- *Paludism* – la debut, splenomegalie asociind febră cu aspect particular, accese palustre, noţiunea de călătorie în zone endemice. In faza cronică, splenomegalia este voluminoasă. Diagnostic pe baza examenului frotiului în picătură groasă din sângele periferic.
- *Leishmanioza (boala Kala-azar)* – splenomegalie voluminoasă, febră neregulată, persistentă, paloare, adenopatii, hepatomegalie. Diagnostic – hipergamma-globulinemie policlonală, prezenţa parazitului pe frotiuri de măduvă sau biopsie ganglionară, serologie.

- *Toxoplasmoza* – splenomegalie discretă, adenopatii occipitale, epitrohleene. Diagnostic serologic.
- *Bilharzioză* - hepatosplenomegalie şi noţiunea de călătorie în zone endemice. Diagnosticul – prezenţa de ouă de parazit în materii fecale, biopsie rectală.
- *Chist hidatic splenic* – aspect sugestiv la examenul echografic. Diagnostic serologic.
- *Abces amibian splenic.*

2. Splenomegalii inflamatorii

Acestea pot fi evocate în contextul asocierii splenomegaliei cu sdr (sub)febril prelungit, manifestări articulare, cutanate, musculare şi/sau renale.

- ***Lupusul eritematos diseminat (LED)*** – splenomegalia face parte dintr-un tablou clinico-biologic mai complex cu atingere multiorganică. Asociază citopenii autoimune : anemie hemolitică, leucopenie. Testele inflamatorii pozitive sugerează diagnosticul care este confirmat de evidenţierea anticorpilor anti-AND nativi.
- ***Sindromul Felty*** – asociază splenomegalie, poliartrită reumatoidă, formă severă, neutropenie severă antrenând complicaţii infecţioase.
- ***Boala Still*** – survine la copil. Asociază splenomegalie, leucocitoză cu neutrofilie.
- ***Boala periodică*** – asociază accese febrile însoţite de dureri articulare şi/sau abdominale. Splenomegalia voluminoasă se asociază frecvent, devenind constantă când survine amiloidoza.
- ***Saroidoza*** – splina se integrează într-un tablou mai larg, în care predomină implicarea ganglionară şi pulmonară. Radiografia toracică poate fi sugestivă.
- ***Splenomegalia din boala serică*** - intervine un mecanism de stimulare antigenică cu proliferare macrofagică.
- ***Splenomegaliile idiopatice tropicale sau netropicale*** – survin într-un context de reacţii disimune.

3. Splenomegalii de sechestrare

Survin în contextul anemiilor hemolitice congenitale sau dobândite cu hemoliză extravasculară. Tabloul clinic se poate caracteriza prin triada hemolitică completă : icter, paloare, splenomegalie. Bilanţul biologic evidenţiază semne de hemoliză - anemie regenerativă cu hiper-reticulocitoză, creştera bilirubinei indirecte, a LDH şi scăderea haptoglobinei serice. Se asociază examene specifice pentru a depista etiologia. Studiul izotopic cu hematii marcate confirmă hemoliza la nivel splenic.

3.1. Anemii hemolitice congenitale (corpusculare)

- ***Anemii prin deficit de membrană*** - microsferocitoza este reprezentantul tipic. Asociază splenomegalie, anemie de tip hemolitic cu microsferocite la examenul frotiului de sânge. Analiza proteinelor membranare eritrocitare confirmă diagnosticul. Splenomegalia poate fi eficace.
- ***Anemii prin anomalii ale hemoglobinei***
  - talasemii alfa sau beta
  - hemoglobinopatii instabile (drepanocitoza)

- ***Anemii prin deficit enzimatic*** – deficit în G6PD (hemoliza este intravasculară, splenectomia fiind ineficace) sau în piruvat kinază (hemoliză extravasculară).

3.2. Anemii hemolitice dobândite

- ***Anemii hemolitice autoimune*** – asociază un tablou de anemie hemolitică cu prezenţa de anticorpi antieritrocitari (test Coombs pozitiv). Pot fi idiopatice sau surveni în contexte disimunitare – colagenoze, sdr limfoproliferative, boli infecţioase.
- ***Anemii hemolitice neimune*** – hemoglobinuria paroxistică nocturnă - crize hemolitice nocturne sau, în caz de acidoză, cu urine intens hipercrome post-criză. Examenele biologice evidenţiază hemoglobinurie, hemosiderinurie, rezistenţă eritrocitară scăzută, în mediul acid.

4. Splenomegalii vasculare – hipertensiunea portală

Orice obstacol situat pe sistemul venos port antrenează hipertensiune portală. Aceasta se asociază, cvasi-constant, cu splenomegalie. Splenomegalia din hipertensiunea portală este de tip congestiv.

Semnele care, asociate unei splenomegalii, pot sugera o etiologie portală sunt : circulaţie venoasă colaterală la nivel abdominal (clinic), ascită (clinic + echografic), varice esofagiene (endoscopie digestivă superioară). Obstacolele, în raport cu ficatul, pot fi :

- ***subhepatice*** **:** obstacole la nivelul venei splenice, trunchiului splenomezaraic, de tipul cavernoamelor, trombozelor, obstacolelor extrinseci prin tumori de vecinătate, fistulelor arterio-venoase;
- ***hepatice*** : postsinusoidale de tip ciroză posthepatitică, alcoolică, biliară primitivă, hemocromatoză sau presinusoidale de tip sarcoidoză, bilharzioză, boala Wilson, fibroză hepatică congenitală;
- ***suprahepatice*** **:** sdr Budd Chiari (tromboza venelor suprahepatice) primitiv sau secundar unui sindrom mieloproliferativ, boală trombo-embolică constituţională, boală veno-ocluzivă, insuficienţă cardiacă, pericardită constrictivă.

5. Splenomegalii în sindroame limfoproliferative

Un context patologic particular, nu foarte rar, mai ales după vârsta de 40 ani, asociind splenomegalie, adenopatii, eventual febră, alterarea stării generale, îl reprezintă hemopatiile limfoide care nu trebuie neglijate. Se impune analiza hemogramei şi, atunci când este cazul, biopsie ganglionară.

- ***Leucemia limfatică cronică*** - splenomegalie +/- poliadenopatii generalizate, mici, elastice, mobile nedureroase. Hemograma (leucocitoză cu limfocitoză peste 10.000/mm^3) şi mielograma (infiltrarea măduvei cu peste 30% limfocite cu morfologie normală) şi imunofenotiparea limfocitelor tumorale (CD19+, CD5+, CD23+, CD10-) permit diagnosticul.
- ***Leucemia cu prolimfocite*** – sdr tumoral este mai voluminos, cu hiperleucocitoză majoră şi aspect celular sugestiv.
- ***Limfoamele non-hodgkin*** – adesea asociază splenomegalie şi adenopatii. Diagnosticul impune biopsie ganglionară cu analiza morfologică, imuno-histochimică şi citogenetică a materialului prelevat. Uneori, limfomul se află în stadiu generalizat, cu descărcarea de celule limfomatoase în sânge care poate preta la confuzii cu LLC.

Imunofenotipajul celulelor tumorale tranşează diagnosticul. Există limfoame splenice pure. Atunci când nu descarcă celule patologice în circulaţie, se impune splenectomia diagnostică.

- ***Leucemia cu tricoleucocite*** – se caracterizează prin splenomegalie voluminoasă, cvasiconstantă, adenopatii superficiale, rar, pancitopenie cu eventuala prezenţă a celulelor tipice – celule limfoide cu nucleu reniform cu citoplasmă bogată cu prelungiri periferice numeroase, foarte fine şi uniform reprezentate. Mielograma poate fi albă, datorită fibrozei medulare reticulinice asociate. Se impune biopsia medulară care evidenţiază o măduvă bogată şi infiltrată cu trioleucocite. Imunofenotipajul (CD11c+, CD25+, CD103+) este sugestiv.
- ***Boala Waldenstrom*** – proliferare de celule limfo-plasmocitare cu adenopatii, splenomegalie, infiltrare medulară, prezenţa unui pic monoclonal cu IgM cu proprietăţi de auto-anticorp (frecvent neuropatie).

6. Splenomegalii în sindroame mieloproliferative

Splenomegalia reprezintă un element constant în sindroamele mieloproliferative cronice, o cauză posibilă ce trebuie evocată în prezenţa oricărei splenomegalii.

- ***Leucemia granulocitară cronică*** - asociază splenomegalie în aproximativ 90% din cazuri. Hemograma este sugestivă pentru diagnosic – hiperleucocitoză cu mielemie şi creşterea procentajului de eozinofile şi bazofile. Mielograma nu este necesară, dar se recomandă determinarea fosfatazei alcaline leucocitare care este scăzută sau 0, şi cariotipul medular care evidenţiază markerul bolii, cromozomul Philadelphia, t(9 ;22).
- ***Poliglobulia primitivă*** - asociază splenomegalie, eritrocianoza tegumentelor şi mucoaselor, prurit cutanat stimulat de expunerea la apă caldă. Hemograma arată creşterea tuturor liniilor celulare. Volumul eritrocitar total este crescut (peste 32-36 ml/kg) în context de saturaţie sanguină în O2 normală. Eritopoienina plasmatică este normală sau scăzută.
- ***Osteomielofibroza cu splenomegalie mieloidă*** - asociază una din cele mai voluminoase splenomegalii din patologie. Hemograma evidenţiază citopenii, mielemie moderată, prezenţa de eritroblaşti în sângele periferic, ca şi de hematii în lacrimă. Biopsia medulară evidenţiază fibroza medulară.
- ***Trombocitemie esenţială*** - splenomegalie moderată, asociată cu trombocitoză majoră de peste 1.000.000/mm^3. Examenul medular evidenţiază hiperplazie şi distrofie megakariocitară.
- ***Leucemia mielo-monocitară cronică*** - splenomegalie frecventă, asociind hiperleucocitoză cu monocitoză şi semne de displazie la nivel medular.

* Splenomegalia din leucemiile acute – splenomegalia poate fi prezentă în cadrul sindromului tumoral din leucemiile acute, dar, adesea, tabloul este dominat de celelalte sindroame, anemic, hemoragic şi infecţios. Rareori, sdr tumoral poate fi pe primul plan. In majoritatea cazurilor, hemograma este sugestivă : anemie, trombocitopenie, leucocitoză cu prezenţa de blaşti. Examenul medular stabileşte diagnosticul.

7. Splenomegaliile de stocaj

7.1. Stocaj lipidic – aociere splenomegalie voluminoasă, hepatomegalie, semne cutanate, osoase, neurologice, survenite într-un context familial cunoscut. Boala devine manifestă la copil sau adolescent.

- ***Boala Gaucher*** – deficit de glucocerebrozidaze, cu acumulare medulară, hepatică şi splenică. Splenomegalie voluminoasă, asociind citopenii variabile şi leziuni osoase. Mielograma evidenţiază prezenţa de celule Gaucher. Deficit de beta-glucocerebrozidază în leucocite.
- ***Boala Nieman-Pick*** – deficit de sfingomielinază, cu acumularea de sfingomielină şi colesterol în macrofage, plămân, SNC.
- ***Boala histiocitelor albastre*** – foarte rară.

7.2. Stocaj non-lipidic

- amiloidoza – primitivă sau secundară (în gamapatii monoclonale)
- hemocromatoza – primitivă sau secundară (post-transfuzională)

8. Splenomegalii izolate primitive

- ***Tumori benigne*** : chist hidatic, chist epidermoid, hamartom
- ***Tumori maligne*** : limfom splenic, hemangiosarcom, limfangiosarcom, fibrosarcom, metastaze carcinomatoase.

ATITUDINE PRACTICĂ

În cazul diagnosticării unei splenomegalii, demersul în vederea diagnosticului etiologic parcurge aceleaşi etape ca pentru orice patologie : anamneza, examen clinic, investigaţii paraclinice.

1. Anamneza

- vârsta, originea etnică - orientează spre anumite patologii constituţionale, mai ales în asociere cu noţiunea de cazuri similare în familie ;
- contactul cronic cu anumite toxice (profesional sau nu) – patologia proliferativă;
- călătorii în zone endemice pentru anumiţi agenţi infecţioşi – splenomegalii infecţioase;
- antecedente de reumatism acut sau valvulopatii – endocardita bacteriană;
- prezenţa unui sindrom infecţios – sugerează splenomegalia infecţioasă;
- prezenţa unui sindrom febril prelungit, eventual nesistematizat, asociat cu transpiraţii, scădere ponderală - splenomegalie tumorală în proliferări maligne sau infecţie cronică (tuberculoză, Candida).

2. Contextul clinic

a) In prezenţa oricărei splenomegalii febrile, trebuie suspicionate :

- o septicemie – prin efectuarea de hemoculturi repetate şi căutarea unei eventuale porţi de intrare;

U.M.F.-Gr. T. Popa-IASI
UZ -1534-
BIBLIOTECA CENTRALĂ

- pe baza hemogramei :
  - o neutrofilie care sugerează o infecţie bacteriană;
  - o leuconeutropenie care evocă o febră tifoidă, bruceloză, mononucleoză infecţioasă, infecţie cu CMV sau alte viroze acute (se realizează serodiagnosticul);
- căutarea unei valvulopatii prin examen clinic şi echocardiografic (ETT et/ou ETO);
- tuberculoza organelor hematopoietice poate fi responsabilă de febra cu alterarea starii generale şi pancitopenie;
- paludismul va fi evocat în contextul unei călătorii în regiuni endemice (frotiu sanguin, examen pe picatură groasă);
- o splenomegalie dureroasă şi febrilă, asociind o hipergammaglobulinemie policlonală, determină căutarea unei leischmanioze :
  - sejur într-o ţară mediteraneană
  - diagnostic : leischmanii la puncţia sternală, serofiagnostic;
- totuşi, o splenomegalie febrilă nu este sinonimă cu o boală infecţioasă, hemopatiile maligne (leucemiile acute, limfoamele), precum şi toate bolile sistemice (LES, boala Still) pot fi revelate de acest tip de tablou.

b) Prezenţa de antecedente de etilism cronic, de hemoragie digestivă, hepatomegalie cu ascită şi circulaţie venoasă colaterală orientează spre o patologie hepatică cu hipertensiune portală (punerea în evidenţă de varice esofagiene la fibroscopie şi semne de HTP la echografie).

c) O poliadenopatie periferică şi/sau profundă poate orienta spre o hemopatie malignă (leucemie acută, limfom Hodgkin, LLC, boala Waldenström).

d) Totuşi se pot observa poliadenopatii şi splenomegalie în cursul virozelor (sdr mononucleozic), în cursul LES, al sarcoidozei, al sifilisului secundar.

e) In prezenţa unei splenomegalii cu icter, trebuie evocate o hepatopatie (icter cu bilirubină conjugată/directă) sau o hemoliză (icter cu bilirubina liberă/indirectă).

f) Examenul cutanat si al mucoaselor poate orienta spre un lupus sistemic (vespertilio, vascularită cutanată), o sarcoidoză, o mastocitoză (papule urticariene şi pigmentate); un sifilis secundar (erupţia palmelor şi a plantelor), o mononucleoză infecţioasă (angină cu membrane false), o hemopatie (purpura sau leziuni infiltrate).

g) Existenţa unei splenomegalii sau mai adesea a unei hepato-splenomegalii febrile trebuie, în contextul unui deficit imun constituţional sau dobândit, să evoce un sdr de activare macrofagică.

- este vorba de un tablou destul de tipic care cuprinde pe lângă febră constantă şi o hepatosplenomegalie frecventă ;
- existenţa de citopenii diverse : trombocitopenie, leucopenie, anemie ;
- mai multe argumente biologice ce evocă activarea monocitară/macrofagică, care este elementul comun al sindromului :
  - hipertrigliceridemie sau hipercolesterolemie
  - hiperferitinemie

U.M.F.-Gr. T. Popa-IASI
UZ -1534-
BIBLIOTECA CENTRALĂ

- hipofibrinogenemie fără semn de coagulopatie de consum
- creşterea nespecifică a LDH

▪ un argument adesea decisiv este adus de mielograma care arată imagini de hemofagocitoză cu macrofage diferenţiate, fagocitând eritrocite, trombocite şi neutrofile ;

▪ acest sindrom poate ţine de cauze diverse. Va fi evocat în primul rând în prezenţa unui deficit imun preexistent :

- fie congenital : limfohistiocitoza familială
- fie dobândit : allografa de maduvă osoasă sau de organ, HIV, tratament imunosupresor;

▪ se poate observa şi independent de un deficit imun preexistent, în cadrul :

- hemopatiilor maligne de tip leucemii sau limfom, mai ales de tip T/NK
- infecţiilor virale (EBV, CMV), bacteriene, fungice sau parazitare
- patologiei auto-imune : lupus, boala Still, poliartrita reumatoidă, sarcoidoza...
- unele medicamente pot fi asociate cu acest sindrom : hidantoina, fenobarbital, tetracicline

▪ este un tablou adesea foarte sever, putând duce la un deces rapid sau la regresie, dar cu posibilitatea de a recidiva.

3. Investigaţiile

3.1. Hemograma – este prima investigaţie de realizat şi care poate orienta diagnosticul. Rezultatul poate fi:

a. Foarte sugestiv :

▪ sindrom mononucleozic → investigaţii în eventualitatea unei infecţii virale;

▪ leucocitoză cu limfocitoză→ investigaţii în eventualitatea unei LLC, leucemii cu prolimfocite;

▪ prezenţa de celule limfoide atipice → posibil LMNH cu descărcare periferică sau leucemie cu tricoleucocite. Imunofenotipajul are mare valoare dignostică. Biopsia ganglionară se impune când se asociază adenopatii accesibile;

▪ leucocitoză cu mielemie evidentă → posibil LGC. Dozarea fosfatazei alcaline leucocitare şi cariotipul medular sunt de ajutor;

▪ leucocitoză cu mielemie moderată şi creşteri pe celelalte linii → posibil sindrom mieloproliferativ de alt tip decât LGC. Se continuă investigaţiile în acest sens – biopsie medulară, volum eritrocitar total, saturaţie în O2 a sângelui arterial, dozare eritropoietină;

▪ anemie, trombocitopenie, prezenţa de blaşti şi hiatus leucemic → leucemie acută;

▪ leucocitoză cu monocitoză→ posibil leucemie mielo-monocitară cronică.

b. Puţin sugestiv → impune mielogramă

▪ anemie aregenerativă→ anemie feriprivă veche prin pierderi cronice, sindrom mielodisplazic, anemie inflamatorie cronică... ;

▪ pancitopenie → posibil leucemie cutricoleucocite, LMNH cu infiltrare medulară, leucemie acută formă aleucemică, hipersplenism... ;

▪ bicitopenii variabile → posibil hipersplenism ;

▪ leucocitoză cu neutrofilie → posibil infecţii bacteriene, sdr mieloproliferative, LMNH T, boală Hodgkin... ;

▪ eozinofilie → posibil parazitoză ;

▪ trombocitoză→ sdr mieloproliferativ, boli inflamatorii cronice.

c. Nesugestiv – hemogramă normală sau citopenii nespecifice în contextul hipersplenismului.

3.2. Mielograma – utilă în confirmarea sugestiei furnizate de analiza hemogramei (sugestive), este absolut necesară în ultimile două situaţii pentru a orienta diagnosticul.

▪ dacă în măduvă apar celule atipice, se asociază imunofenotipajul şi examenul citogenetic →hemopatii limfoide, hemopatii mieloide, boala Waldenstrom, boli de stocaj ;

▪ dacă măduva este normală→ cauza este periferică, adesea hipersplenismul este asociat splenomegaliei;

▪ dacă măduva este relativ normal, dar există suspiciunea unei proliferări hematologice sau nehematologice → se va practica biopsia medulară;

▪ dacă măduva are un aspect foarte sărac la mielogramă → se va practica biopsia medulară.

3.3. Examene biochimice/imunologice

▪ electroforeza → hiperglobulinemie monoclonală (Waldenstrom), hipergamma-globulinemie policlonală (hepatopatii cronice, leishmanioză), hipogammaglobulinemie (sdr limfoproliferative) ;

▪ teste hepatice → hepatopatii cronice ;

▪ teste eritrocitare → studii membrană, electroforeza hemoglobinei, teste Coombs;

▪ serologii → virale, fungice, parazitare ;

▪ biopsie ganglionară, biopsie hepatică.

3.4. Examene imagistice

▪ echografie abdominală

▪ echo-doppler pe circulaţia portă şi suprahepatică

▪ CT abdominal

▪ scintigramă hepatosplenică şi captare splenică

4. Splenectomia

– gest ultim, poate avea mai multe scopuri :

4.1. scop diagnostic – este indicată atunci când toate investigaţiile precedente nu au reuşit să elucideze diagnosticul, cu atât mai mult în cazul în care splenomegalia este tumorală, are consecinţe clinice şi/sau biologice sau există suspiciunea unei proliferări maligne;

4.2. scop terapeutic - în microsferocitoză, în anemii hemolitice autoimune corticorezistente sau corticodependente, în sdr de hipersplenism care nu au răspuns la alte tentative terapeutice, în leucemia cu tricoleucocite (indicaţiile s-au restrâns datorită apariţiei noilor terpaii citostatice);

4.3. de necesitate - în rupturile de splină, infarcte splenice multiple, hematoame subcapsulare;

4.4. preventiv - în cazurile de splenomegalie tumorală cu fenomene de hemodiluţie şi supraîncărcare circulatorie ce antrenează risc de decompensare cardiacă.

Recomandări :

- vaccinarea anti-pneumococică şi anti-hemofilus în pre-operator (risc infecţios cu germeni încapsulaţi post-operator);
- endoscopie digestivă pentru depistarea eventualelor varice esofagiene şi gastrice (risc hemoragie digestivă în post-operator);
- intraoperator, în funcţie de context, se va proceda la biopsie hepatică şi/sau biopsii ganglionare ;
- splina va fi trimisă la laboratorul de anatomie-patologică pentru studii morfologice, imunohistochimice şi citogenetice.

Consecinţe ale splenectomiei :

- hiperleucocitoză şi hipertrombocitoză - imediat post-operator, cu corecţie în 4-8 săptămâni ;
- anomalii eritrocitare – prezenţa de corpi Jolly;
- risc infecţios cu germeni încapsulaţi – *pneumococcus, haemophyllus, neisseria.*

INVESTIGAŢII ÎN HEMATOLOGIE

HEMOGRAMA : INDICAŢII ŞI INTERPRETARE

GENERALITĂŢI

Hemograma este examenul elementelor figurate din sânge (leucocite, eritrocite, trombocite). Hemograma se realizează în două etape – una cantitativa şi alta calitativă :

⇨ ***Numărătoarea*** elementelor figurate din sânge se realizează, în prezent, în mod automatizat, permiţând obţinerea unei hemograme cu formula sanguină. Hemograma conţine

- numărul de leucocite cu formula leucocitară,
- numărul de trombocite şi
- numărul de hematii alături de hemoglobină, hematocrit şi indicii eritrocitari.

⇨ ***Examenul morfologic*** al elementelor figurate din sânge se realizează prin examinarea la microscop a frotiurilor de sânge (obţinute prin etalarea sângelui pe lame) colorate tip May-Grunwald-Giemsa (MGG). Cu această ocazie, se realizează o nouă formulă leucocitară, « ***formula manuală*** », care este mai fiabilă decât « ***formula automatizată*** ».

RAPEL AL ELEMENTELOR CELULARE SANGUINE

Leucocitele

- Leucocitele reprezintă ansamblul celulelor nucleate din sânge.
- Sunt compuse din :
  - elementele liniei limfoide : limfocitele T, B şi Natural Killer (NK);
  - elementele liniei mieloide : polimorfonuclearele şi monocitele.
- Polimorfonuclearele (PN) se împart în trei subpopulaţii : neutrofile, eozinofile şi bazofile.
- Numărul normal de leucocite din sângele periferic variază între 4.000 şi 10.000/mm^3.
- Reprezentarea fiecărei linii leucocitare trebuie apreciată prin valoarea sa absolută (/mm^3) şi nu prin procentajul său !!!

a) Polimorfonucleare neutrofile (PN)

- Celule cu nucleu polilobulat (2-4 lobuli) conţinând granulaţii fine "bazofile".
- Rolul : fagocitarea corpilor străini, citotoxicitate (bactericidie).
- Precursorii medulari :
  - Precursorii medulari identifiabili pe mielogramă sunt, în ordinea maturaţiei: mieloblastul, promielocitul, mielocitul, metamielocitul.
  - Prezenţa acestor celule în sânge este denumită « mielemie ».
- Numărul absolut normal de PNN este de 1.700-7.000/mm3.

b) Polimorfonuclearele eozinofilei (Eo)

- Celule cu nucleu mai puţin polilobulat decât al PN (aspect în "desagă"), conţinând granulaţii grosiere portocalii, "eozinofilie".
- Rol : fagocitoză, anti-parazitar, implicat în mecanismele alergice (posedă receptori pentru IgG, IgE).
- Precursorii medulari : denumiri identice cu cele ale PN.

- Numărul în valoare absolută de Eo este de < 500/mm^3.

c) Polimorfonuclearele bazofile (B)

- Celule cu nucleu mai puţin lobulat decât al PN, conţinând granulaţii mari, gosiere, de culoare negricioasă.
- Rol : implicate în reacţii de hipersensibilitate imediată şi întârziată (receptori pentru IgG, IgE), secreţie de histamină.
- Precursori medulari : denumire identică cu a celor din linia PNN.
- Numărul în valoare absolută B este de < 50/mm^3.

d) Monocitele (M)

- Celule mononucleate cu nucleu neregulat şi citoplasmă abundentă, cenuşie, fin granulară şi cu prezenţa de vacuole.
- Rol : precursor al macrofagului tisular implicat în fagocitoza corpilor străini, citotoxicitate. Are şi rolul de celulă prezentatoare de antigen limfocitelor T.
- Precursori medulari : hemoblast, monoblast, promonocit.
- Numărul absolut normal este de 100-1.000/mm^3.

e) Limfocitele (L)

- Celule mononucleate cu nucleu rotunjit-ovalar şi regulat cu cromatina în grămezi. Unele limfocite pot conţine granulaţii (granulaţiile citotoxice ale limfocitelor T sau NK).
- Pe frotiu, distincţia între limfocitele T (cele mai frecvente în sânge) şi cele B şi NK este imposibilă (realizabilă numai prin imunofenotipaj).
- Rolul limfocitelor :
    - limfocitele B sunt implicate în imunitatea umorală (sinteza de anticorpi);
    - limfocitele T sunt implicate în imunitatea celulară. Unele sunt implicate în reglarea răspunsurilor imune (CD4+ - limfocite T helper), altele sunt implicate în liza celulelor infectate sau tumorale (CD8+ - limfocite T suppressor).
    - limfocitele NK fac parte din imunitatea înnăscută. Au o funcţie citotoxică.
- Precursorii medulari ai limfocitelor fac parte dintre hemoblaşti (celula cea mai imatură identificabilă cu coloraţia MGG) şi limfocitele medulare.
- Numărul absolut normal al limfocitelor este de 1.400-4.000/mm^3.

Trombocitele

- Trombocitele sunt cele mai mici elemente din sânge. Sunt anucleate şi granuloase.
- Rol :
    - esenţial în hemostaza primară - au receptrori membranari pentru factorul (GPIbIX) şi pentru fibrinogen (GPIIbIIIa);
    - în coagulare (secreţia de fibrinogen, de factor V, de kininogen cu greutate moleculară mare, de factor von Willebrand, expunerea de fosfolipide membranare);
    - în procesul inflamator (secreţia de amine vasopresive, de chemokine).
- Precursorii medulari ai trombocitelor sunt megakarioblaştii, promegakariocitele şi megakariocitele. Sunt celule medulare de talie mare.

- Durata de viaţă este de aproximativ 10 zile.
- Numărul absolut normal este de 150.000-400.000/mm^3.

Globulele roşii (hematiile, eritrocitele)

- Sunt elementele celulare sanguine cele mai numeroase.
- Sunt anucleate şi au formă de disc biconcav.
- Rol : transportul oxigenului şi al unei părţi din CO2.
- Precursorii medulari sunt eritroblaştii : proeritroblast → eritroblast bazofil → eritroblast policromatofil → eritroblast acidofil. La sfârşitul procesului de maturaţie, eritroblastul expulzează nucleul pentru a da un reticulocit care se maturează în maduvă înainte de a da eritrocitul.
- Eritropoieza durează 7 zile (termenul de aşteptare al unei crize reticulocitare în caz de regenerare după o anemie).
- Durata de viaţă a eritrocitului este de 120 zile.

Tabel 3 -Valori normale ale hemogramei şi numărătorii de reticulocite la adult

Leucocite		
Leucocite	4.000-10.000/mm3 (4-10 G/L)	
Polimorfonucleare neutrofile	1.700-7.000/mm3 (1,7-7 G/L)	
Polimorfonucleare eozinofile	< 500/mm3 (0,05-0,5 G/L)	
Polimorfonucleare bazofile	< 50/mm3 (0,01-0,05 G/L)	
Limfocite	1.400-4.000/mm3 (1,4-4 G/L)	
Monocite	100-1.000/mm3 (0,1-1 G/L)	
Globule roşii		
	Bărbaţi	***Femei***
Hemoglobină	> 13 g/dL	> 12 g/dL
Globule roşii	4,5-6,2 1012/L	4-5,5 1012/L
VEM	80-100 fL	
CHEM	32-36 g/dL	
HEM	28-32 pg	
Hematocrit	40-54%	35-47%
Reticulocite	25.000-100.000/mm3 (25-100 G/L)	
Trombocite		
Trombocite	150.000-400.000/mm3 (100-500 G/L)	

- Concentraţia hemoglobinei transportate de sânge este cea care defineşte normalitatea sau o anemie.
- Hemograma cuprinde, pe lângă nivelul de hemoglobină, numărătoarea de eritrocite, hematocrit şi alte constante importante pentru evaluarea unei anemii : volumul eritrocitar mediu (VEM), concentraţia în hemoglobină eritrocitară medie (CHEM) şi nivelul hemoglobinei eritrocitare medii (HEM).
- Numărătoarea de reticulocite nu face parte din hemogramă.

INDICAŢII ALE HEMOGRAMEI ŞI VARIAŢII FIZIOLOGICE

Indicaţii

- deficitul unei linii celulare sanguine :
    - neutropenie şi infecţie gravă
    - anemie şi sindrom anemic
    - trombocitopenie şi sdr hemoragipar
- sindrom tumoral
- manifestări trombotice
- bilanţ pre-operator

a) sindrom infecţios

- febră prelungită
- infecţii recidivante, rezistenţe la antibioterapie
- forme grave de la debut : şoc septic, angină ulcero-necrotică, infecţii ale părţilor moi
- infecţii după o chimioterapie citotoxică
- administrarea unui medicament cu toxicitate hematologică

b) sindrom anemic

- astenie, fatigabilitate, dispnee de efort, paloare sclero-tegumentară
- consecinţe cardiace şi respiratorii : dispnee, angor, semne de insuficienţă cardiacă
- consecinţe neurologice : lipotimii, vertije, acufene…

c) sindrom hemoragic

- purpură, echimoze repetate spontan sau la traumatisme minore, hemoragii ale mucoaselor (epistaxis, bule hemoragice intra-bucale)
- sdr hemoragic grav : hemoragii neuromeningee, digestive, hematoame profunde

d) sindrom tumoral

- în special : adenopatii izolate, splenomegalie, hepatomegalie
- altele : adenopatii profunde – lărgirea mediastinului, hipertrofie gingivală, leziuni cutanate infiltrate (hematodermie, eritrodermie)

e) tromboze arteriale sau venoase

- infarct de miocard, accident vascular cerebral, tromboză arterială periferică

- tromboflebită cerebrală, tromboză vena portă, tromboză a venei suprahepatice (sdr Budd-Chiari)
- semne de hipervâscozitate : cefalee, acufene, scădere acuitate vizuală

f) bilanţ pre-operator

- înaintea oricărei intervenţii chirurgicale cu potenţial hemoragic
- la pacienţii cu sdr anemic
- la subiecţii cu risc de anemie : copil < 1 an, gravidă, subiect cu risc de hemoglobinopatie.

Variaţii fiziologice ale hemogramei

Aceste variaţii trebuie cunoscute pentru a se evita investigaţii inutile datorită confuziei cu o situaţie patologică.

a) Vârsta

- Nivelul Hb :
    - mai ridicat la copil (anemie când Hb < 13,5 g/dL)
    - scade cu vârsta, până la 5 ani (anemie cand Hb < 11 g/dL)
    - creşte apoi până la valorile observate la adult, în funcţie de sex, de la vârsta de 12 ani
- Leucocitele :
    - inversiunea formulei leucocitare, observată la copil
    - numărul de leucocite este mai frecvent, de peste 10.000/mm^3, înainte de un an
    - cifra absolută a limfocitelor este mai mare decât la adult, până la 4 ani (< 5.000/mm^3)
    - la această vârstă, numărul absolut de neutrofile este mai mic decât la adult (> 1.200/mm^3)

b) Sexul

- Nivelul Hb trebuie interpretat în funcţie de sex, începând de la pubertate.

c) Etnie

- Nivelul Hb :
    - nivelul Hb la rasa neagră este inferior cu 0,8 - 1 g/dL ➔ exces al diagnosticului de anemie la această populaţie
- Numărătoarea de leucocite :
    - o neutropenie etnică (marginalizare) există la subiecţii de rasă neagră şi duce, de regulă, la un exces de investigaţii. Această neutropenie este fluctuantă (> 500/mm^3) şi nu se asociază cu o incidenţă crescută a infecţiilor repetate sau severe.

d) Sarcina

- Nivelul de hemoglobină :
    - este în mod fiziologic scăzut, în parte datorită hemodiluţiei
    - este admis un prag de 11g/dL, deşi acest nivel diminuează de la un trimestru la altul (scădere cu aproximativ 1 g/dL)
    - trebuie avută în vedere şi o carenţă marţială asociată.

- Numărătoarea de leucocite :
  - există o creştere a numărului de leucocite, în special pe baza neutrofilelor, creştere care este maximă în al treilea trimestru.
- Numărătoare trombocitară :
  - există o scădere moderată a numărului de trombocite în timpul sarcinii.

e) Alţi factori

- Fumatul este responsabil de o hiperleucocitoză cu neutrofilie (creştere de aproximativ 20%) dar şi o limfocitoză.
- Alcoolul antrenează variaţii moderate ale VEM (creştere).
- Efortul fizic antrenează hiperleucocitoză (creştere de aproximativ 50%) cu neutrofilie, cu o limfocitoză care se normalizează la 20 minute de la terminarea efortului.
- Altitudinea de peste 2.000 m poate antrena o poliglobulie şi trombocitoză (sejur de peste 3 săptămâni la peste 2.000 m).

ANOMALII ALE HEMOGRAMEI

NEUTROFILIA

La adult, numărul normal de leucocite din sângele periferic este cuprins între 4.000 şi 8.000/mm^3, din care neutrofilele reprezintă 40-70%. Se consideră că există o neutrofilie atunci când numărul de polinucleare neutrofile depăşeşte 7.500-8.000/mm^3 în valoare absolută. Întotdeauna, în aprecierea corectă a unei neutrofilii trebuie să se ţină seama de vârstă, sex şi rasă.

1. Clinic

Anamneza :

- priza medicamentoasă
- expunere la toxice, tabagism
- splenectomie în antecedentele recente
- febră de lungă durată
- sarcină

Examen fizic :

- infecţii uneori latente : febră, focar infecţios, suflu cardiac (endocardită), focar ORL, prostatită...
- splenomegalie
- adenopatii, sindrom tumoral
- semne de boală sistemică (artralgii, erupţie cutanată)

• Nu există nici o consecinţă a neutrofiliei în afara diagnosticului de leucemie mieloidă cronică formă hipercelulară (leucostază, tromboze). Ingrijirea cazului se bazează pe chimioterapie (hidroxiuree, uneori leucafereză).

2. Etiologii

Cauzele şi mecanismele de apariţie a neutrofiliilor sunt arătate de ***Tabelele 4*** şi respectiv ***5***.

***Tabel* 4**

CAUZELE NEUTROFILIEI
I . Neutrofilia acută
➢ **Stimuli fizici** - frig, căldură, exerciţii fizice, convulsii, dureri, travaliu, anestezie, intervenţii chirurgicale
➢ **Stimuli emoţionali** - panică, furie, stress major
➢ **Infecţii** - majoritatea infecţiilor localizate sau sistemice de natură bacteriană, micotică, rickettsiană, spirochetală şi unele infecţii virale
➢ **Inflamaţii sau necroze tisulare** - arsuri, şoc electric, traumatisme, infarct miocardic, gută, vasculite, complexe imune, activare a complementului
➢ **Medicamente, hormoni, toxine** - adrenalină, endotoxină, corticosteroizi, veninuri, vaccinuri, factori de creştere
II . Neutrofilia cronică
➢ **Infecţii** - persistenţa infecţiilor care provoacă neutrofilie acută
➢ **Inflamaţii** - continuarea majorităţii inflamaţiilor acute ca RAA, poliartrită reumatoidă, gută, vasculite cronice, miozite, nefrite, colite, pancreatite, dermatite, tiroidite, periodontite
➢ **Tumori** - gastrice, bronhopulmonare, mamare, renale, hepatice, pancreatice, uterine, carcinoame scuamoase, boala Hodgkin (rar), limfoame, mieloame, Waldenstrom, melanom
➢ **Medicamente, hormoni toxine** - continuarea expunerii la substanţele care provoacă neutrofilia acută, carbonatul de litiu
➢ **Boli metabolice şi endocrine** - eclampsia, hiperproducţia de ACTH sau glucocorticoizi, hiperfuncţia tiroidiană
➢ **Boli hematologice** - recuperarea după o agranulocitoză sau anemie megaloblastică, hemoliză cronică, hemoragii, a- sau hiposplenism, boli mieloproliferative, leucocitoză cronică idiopatică
➢ **Boli ereditare şi congenitale** - sindrom Down

***Tabel* 5**

MECANISMELE NEUTROFILIEI						
Compartimentele medulare			**Compartimentul sanguine**		**Mecanism**	**Cauze**
Mit	**Mat**	**Depozit**	**Marginal**	**Circulant**		
N	N	N	N	N	Homeostazie	
N	N	<	>	>	Eliberare din depozite	Boli acute (stress, intoxicaţii, infecţii, hipoxie) Endotoxine Corticoizi
N	N	N	<	>	Demarginalizare	Boli acute (stress, intoxicaţii, infecţii, hipoxie) Efort fizic Adrenalină
>	>	>	>	>	Proliferare	Boli cronice (infecţii, tumori, boli endocrine, inflamaţii) Post-neutropenie Mieloproliferări
>	>	>>	>>	>>	Proliferare + inhibarea apoptozei	L.G.C.

Mit = compartiment mitotic, Mat = compartiment de maturare N = fără modificări, > = creşte, < = scade

Neutrofilia apare în contextul creşterii globale a leucocitelor (leucocitoza). Prezenţa acesteia, denumită ca reacţie leucemoidă, poate impune diferenţierea între aceasta şi un sindrom mieloproliferativ. ***Tabelul 6*** prezintă elementele de orientare pentru diferenţierea celor două contexte patologice.

Tabel 6

DIAGNOSTICUL DIFERENŢIAL AL NEUTROFILIILOR SEVERE	
Sdr Mieloproliferative	**Reacţie mieloidă**
Absenţa unei alte etiologii (nonproliferative)	Prezenţa unui context inflamator (infecţios, imun, tumoral)
Leucocitoza poate depăşi 100.000/mm^3	Leucocitoza nu depăşeşte 50.000/mm^3
Prezenţa mielemiei	Predomină formele mature, cele imature sub 10-15%
Fosfataza Alcalină Leucocitară este scăzută sau absentă în LGC, crescută în celelalte	Fosfataza Alcalină Leucocitară este crescută
Se asociază frecvent eozinofilie, bazofilie sau monocitoză	Eozinofilia, bazofilia sau monocitoza sunt absente
Trombocitele sunt adesea cu anomalii morfologice, anomalii funcţionale şi crescute ca număr, frecvent peste 1.000.000/mm^3	Trombocitele sunt mici, sunt normale morfologic, funcţional şi nu cresc peste 600.000 - 700.000/mm^3
Poate surveni trombocitopenie	Trombocitopenia nu apare
Eritrocitele pot avea anomalii : prezenţa de eritrocite nucleate sau cu forme patologice precum dacriocitele, policromatofilia	Eritrocitele nucleate sunt absente din sângele periferic, absenţa anomaliilor morfologice
Splenomegalia apare în 30-80% din cazuri, în funcţie de tipul de boală	Splenomegalia este absent
Măduva osoasă este anormală - hipercelulară, cu agregate plachetare şi megacariocitare	Măduva este hiperplazică, dar fără alte anomalii
Cariotipul celulelor medulare este adesea anormal, mai ales Crs Ph în LGC	Cariotipul celulelor medulare este normal

După W.R. Friedemberg

NEUTROPENIE

- Neutropenia este definită prin scăderea numărului de neutrofile la adult şi la copilul de peste 10 ani sub 1.800/mm^3, la copilul sub 10 ani sub 1.500/mm^3, iar la nou-născut, în primele 7 zile, sub 6.000/mm^3.
- Prezenţa unei imunoglobuline monoclonale poate falsifica numărul de PN şi da false neutropenii.
- Riscul infecţios este proporţional cu severitatea neutropeniei, riscul fiind redus când PN > 500/mm^3.
- Simptomatologie infecţioasă – vezi agranulocitoza.
- Orice neutropenie cu valori sub 500/mm^3, izolată sau nu, trebuie explorată prin mielogramă.
- Etiologia neutropeniilor este foarte variată, dar mecanismele care o determină sunt mai restrânse :
  - insuficienţa de producţie prin aplazie, hipoplazie sau displazie datorită unei afectări a celulei suşe sau a micromediului medular
  - utilizarea masivă cu trecerea unui număr mare în ţesuturi, fără compensare prin producţie corespunzătoare.
  - Distrucţie masivă în sânge prin anticorpi.

  - Marginaţie excesivă la nivelul pereţilor venulari.
  - Inhibarea ieşirii din măduvă (citodiabaza).

1. ETIOLOGIE

1.1. Neutropenii periferice

Sunt rare :

- neutropenie auto-imună :
  - prezenţa de de anticorpi anti-neutrofile
  - izolată, este mai frecventă la copil
  - poate surveni în cadrul unei boli autoimune : lupus, tiroidita Hashimoto, boala Wegener
- neutropenie allo-imună, mai ales neonatală
- hipersplenism
- neutropenie de marginaţie : tulburări de repartiţie a PN

1.2. Neutropenii centrale

a) Neutropenii medicamentoase

- mecanism toxic sau imunoalergic..

b) Neutropenii infecţioase

- virale : HIV, VHB, EBV, CMV, parvovirus B19, gripă, roujeolă, rubeolă...
- bacteriene : tifos, bruceloză, tuberculoză, salmoneloză, rickettsioză, septicemie
- parazaitare : paludism, leishmanioze viscerale (Kala-Azar)

c) Sindrom Felty

- cuprinde: poliartrită reumatoidă, splenomegalie, neutropenie în context de proliferare de LGL (limfocite cu granulaţii mari)
- mecanismul neutropeniei est central şi periferic (autoimun, hipersplenism).

d) Insuficienţa medulară

- rar izolată :
  - infiltrat medular : leucemie, limfom, metastaze
  - aplazie medulară
  - SMD

e) Neutropenii congenitale

- neutropenii ciclice şi sdr Kostman (agranulocitoză congenitală) datorate unor mutaţii în gena elastazei
- deficite imunitare : sdr Wiskott-Aldrich, ataxie-telangiectazie, deficit imunitar combinat sever
- sdr Schwachman (-Diamond) : retard de creştere, insuficienţă pancreatică exocrină
- boala Fanconi
- diskeratoză congenitală (sdr Zinsser-Engman-Cole)

f) Endocrinopatii

- distiroidie

- insuficienţă suprarenală

g) Etiologii carenţiale

– carenţă în fier

– deficit în B12 şi folaţi

2. CONSECINŢE CLINICE

- Neutropeniile pot antrena accidente infecţioase. Acestea implică în primul rând cavitatea bucală (aspect difuz), sinusurile maxilare, frontale, rinofaringele, urechea medie, aparatul respirator, intestin, piele.
- Germenii cei mai frecvent implicaţi sunt cocii Gram (+) sau Gram (-), mai ales stafilococul şi colibacilul.
- În evoluţie pot apărea dureri abdominale sau difuze, asociind febră, diaree uneori hemoragice, datorate unei enterite sau colite necrotice.
- Prognosticul poate fi afectat de instalarea unui şoc septicemic.

3. EVALUAREA PACIENTULUI CU NEUTROPENIE

Descoperirea întâmplătoare a unei neutropenii asimptomatice trebuie să antreneze la oprirea oricărui medicament susceptibil de a fi factor etiologic şi la căutarea oricărei infecţii virale asimptomatice. Analizele trebuie repetate la 1-2 săptămâni pentru confirmarea neutropeniei. Confirmarea acesteia obligă la o analiză mai aprofundată :

1. Anamneza – trebuie să urmărească

- infecţii virale recente
- consum medicamentos cronic sau ocazional recent
- contactul cu substanţe mielotoxice
- antecedente familiale
- antecedente patologice personale - în special poliartrita rheumatoidă LES
- prezenţa ciclică a unor manifestări ca astenie, fatigabilitate, pierderea apetitului, ulcere bucale – poate fi sugestivă

2. Examenul clinic – de urmărit :

- ulcere ale cavităţii bucale
- limfadenopatii şi/sau hepatosplenomegalie
- abcese cutanate
- deformări articulare
- sindrom hemoragic cutaneo-mucos
- rash cutanat

3. Investigaţii

- Examinarea frotiului de sânge periferic dă relaţii asupra numărului şi morfologiei leucocitare şi asupra neutrofilelor, ca şi informaţii asupra celorlalte linii celulare.
- Examenul măduvei osoase este esenţial în formele severe şi/sau persistente. Dă relaţii asupra densităţii celulare globale (normală, săracă sau hiperplazică), asupra raportului serie granulocitară/eritrocitară, asupra importanţei fiecărui compartiment medular (*proliferativ* -

mieloblaşti, promielocite, mielocite, *de maturare* - metamielocite, *de rezervă* - polinucleare). Se va apela la examenul citologic (puncţie) şi la cel histologic (biopsia).

- Metode izotopice de măsurare a duratei de viaţă, de evaluare a fenomenului de marginaţie, de apreciere a granulopoiezei prin înglobarea H3-timidinei.
- Examenele biochimice de dozare a lizozimului seric şi urinar care scade în cazul diminuării producţiei celulare şi creşte în distrucţiile celulare excesive.
- Testele de eliberare din rezervele medulare cu endotoxină
- Cultura de celule suşe hematopoietice
- Testele imunologice pentru formele imunologice : determinarea anticorpilor antinucleari, a factorului rheumatoid, imunelectroforeza, determinarea de anticorpi antineutrofile, dozarea nivelului seric al vitaminei B12 şi acidului folic.
    - Majoritatea testelor sunt rezervate unor laboratoare specializate.

EOZINOPENIA

- Nivelul sanguin al eozinofilelor poate fi scăzut în caz de infecţii acute, de administrare de glucocorticoizi, ACTH, prostaglandine, adrenalină.
- Mecanismul de acţiune a glucocorticoizilor este atribuit inhibării eliberării celulelor mature din măduvă şi unei marginalizări crescute a celulelor în vasele mici.
- Au fost comunicate câteva cazuri de aneozinofilie completă. La unii dintre pacienţi s-a demonstrat faptul că IgG avea capacitatea de a inhiba formarea de colonii eozinofilice în cultură, sugerând un mecanism autoimun.

EOZINOFILIA

- Se consideră că numărul normal de eozinofile în sângele periferic este inferior la 450 elemente/mm^3. În cazul în care numărul variază între 500 şi 1.500 elemente/mm^3, se defineşte o hipereozinofilie moderată, iar peste 1.500/mm^3 se defineşte hiereozinofila majoră.
- In primele trei luni de viaţă, există o eozinofilie "fiziologică", de trei ori superioară adultului.
- Mecanismul care stă la baza majorităţii cazurilor de eozinofilie reactivă pare a fi accelerarea producţiei medulare induse de factori cu origine în limfocitele T. Se pare că sensibilizarea unui subset de limfocite T de către medicamente, substanţe alimentare, toxine eliberate de insecte şi paraziţi poate conduce la eliberarea de către acestea a unui (unor) factor(i) de creştere cu specificitate pentru linia eozinofilă.
- Eozinofilele sunt atrase de factori chemotactici ca histamina şi factorul chemotactic eozinofilic al anafilaxiei (ECF-A) secretate de mastocite şi limfochine, ceea ce explică de ce eozinofilele se acumulează în situs-urile cu degranulare mastocitară sau cu limfocite activate.
- Leziunile tisulare asociate cu persistenţa eozinofilelor sunt secundare efectelor substanţelor eliberate de celulele distruse sau pot fi datorate unor anomalii intrinseci ale eozinofilelor.

Tabel 7

BOLI ASOCIATE CU EOZINOFILIE
➢ **PARAZIŢI** Protozoare : Pneumocystis, toxoplasmoză, amebiază, malarie Metazoare : Nematode : Strongyloides, enterobiază, ascaridiază, toxocaraă, botriocefaloză, trichineloză, filarioză Trematode : schistosomiază, paragonimiază Cestode : cisticercoză, echinococoză, teniază Artropode : scabia
➢ **BOLI ALERGICE** Febra fânului, astmul, pneumoniile de sensibilizare, edemul angioneurotic, urticaria, angioedemul, boala serului, vasculitele alergice, sdr Stevens-Johnson
➢ **DERMATITELE** Psoriazis, eczemă, dermatită herpetiformă, pemfigus, prurigo, ichtioză, pitiriazis, granulom facial
➢ **SINDROAMELE HIPEREOZINOFILE** Leucemia cu eozinofile, sindromul Loefler, boala ţesutului conjunctiv cu eozinofile, poliarterita nodoasă
➢ **IMUNODEFICIENŢE** Sdr Wiscott-Aldrich, sdr hiperimunglobulinemic E, deficitul de IgA, boala grefă-contra-gazdă
➢ **BOLI ENDOCRINE** Boala Addison, insuficienţa hipofizară
➢ **BOLI GASTRO - DUODENALE** Gastroenterita cu eozinofile, boala precipitinelor din lapte, colitele ulcerative, enteropatia cu pierderi de proteine, enteritele regionale, granulomatozele alergice
➢ **NEOPLAZII** Carcinomatoză, tumori epiteliale, tumori cerebrale, melanoame, neoplasme sân, uter, bronho-pulmonar
➢ **HEMOPATII** Boala Hodgkin, mycosis fungoides, limfoame, leucemii acute, granulom eozinofil, histiocitoză familială, sdr mieloproliferative, boala Fanconi
➢ **BOLI EREDITARE** Eozinofilia familială, eozinofilia ereditară
➢ **BOLI SISTEMICE** Fasciita cu eozinofile, angeita Churg-Straussm, poliarterita reumatoidă, periartrita nodoasă, granulomatoza Wegener, angeita de sensibilizare Zeek, LES, sdr Goujerot-Sjogren, histiocitoza, sarcoidoza
➢ **DIVERSE** Boli timice, hipoxia, dializa peritoneală, bolile renale cronice, sdr Goodpasture, radioterapia, splenectomia, pneumonia, pleureziile, eozinofilia ciclică

HIPERBAZOFILIE

- Hiperbazofilia este definită printr-o valoare absolută a bazofilelor de > 150/mm^3.
- Este rar întalnită izolat, este prezentă predominant în sdr mieloproliferative :
    - leucemia granulocitară cronică :
        - creşterea bazofiliei este semn de evolutivitate a bolii (faza de acceleraţie)
    - policitemia *rubra vera* sau boala Vaquez
    - trombocitemia esenţială (mai rar).
- O diferenţiere în bazofilia medulară poate fi observată în unele leucemii acute mieloblastice şi în sdr mielodisplazice.

MONOCITOZA

- Monocitoza este definită de o cifră absolută a monocitelor de peste 1.000/mm^3.
- Se deosebesc formele reactive de cele primitive.

1. Monocitoze reactive

- Infecţii :
    - tuberculoza, brucelloza, sifilis
    - endocardita
    - paludismul, tripanosomiaza, leishmanioza
- Faza de recuperare după o neutropenie sau agranulocitoză :
    - o monocitoza devansează şi apoi însoţeşte o creştere a PN după o fază de neutropenie
    - cel mai adesea apare după chimioterapie, mai ales când se asociază şi administrarea unui factor de creştere.
- Patologii inflamatorii :
    - cancere (rinichi, stomac, bronşii, pancreas, ovare...)
    - boala Hodgkin, LMNH (agresive)
    - colagenoze – LES....
    - sarcoidoză
- Administrarea de GM-CSF

2. Monocitoze primitive

- leucemia mielomonocitară cronică (LMMC)
- leucemia mielomonocitară juvenilă
- leucemia acută mieloblastică cu componentă mielocitară – LAM4, LAM5
- alte sdr mieloproliferative atipice

HIPERLIMFOCITOZA

- Este definită printr-un număr de limfocite > 4.000/mm^3.
- Examenul clinic trebuie să caute :
    - tabagism
    - context infecţios : sindrom pseudo-gripal recent, febră, tuse
    - sindrom tumoral : adenopatii, splenomegalie.
- Frotiul sanguin şi examenul citologic al limfocitelor permit orientarea diagnosticului :
    - prezenţa de limfocite mari albastre, polimorfe orientează spre un sdr mononucleozic;
    - prezenţa de limfocite aparent mature şi umbre Gumprecht (nuclee de limfocite distruse prin etalarea frotiurilor) evocă o leucemie limfocitară cronică;
    - prezenţa de limfocite atipice evocă o hemopatie limfoidă leucemizată;
    - prezenţa de limfocite binucleate la o femeie tânără şi fumătoare sugerează o hiperlimfocitoză policlonală benignă.
- In caz de suspiciune de hemopatie, se indică o imunofenotipare a limfocitelor circulante :

- **care confirmă sau nu caracterul monoclonal al proliferarii linfoide**;
- **care defineşte tipul de hemopatie** (LLC, leucemie cu prolimfocite, fază leucemică a unui limfom ...).

TROMBOCITOZA

Vezi capitolul Trombocitemie esenţială

TROMBOCITOPENIE

Vezi capitolul SDR Hemoragipare

PANCITOPENIE

- O pancitopenie este dată de asocierea :
  - unei anemii (Hb < 13 g/dl la bărbat, Hb < 12 g/dl la femeie)
  - unei leuconeutropenii (PN < 1.400/mm3)
  - unei trombocitopenii (Tr < 150.000/mm3).
- Circumstanţele de diagnostic pot fi :
  - supravegherea unui tratament citotoxic sau radioterapic
  - semne izolate sau asociate de sdr anemic, infecţios (neutropenia) şi hemoragipar (trombocitopenia)
  - fortuită, cu ocazia unei NFS.

1. Clinic

In toate cazurile, trebuie evaluată severitatea pancitopeniei :

- elemente clinice :
  - sdr anemic greu tolerat : dispnee de repaos, angor, ameţeli, vertije, alterarea stării de conştienţă....
  - sdr infecţios : orice febră la un pacient neutropenic, cu PN sub 1.000/mm^3 reprezintă o urgenţă
  - sdr hemoragic : purpură extensivă difuză, bule hemoragice în cavitatea bucală, hemoragii retiniene, scăderea acuităţii vizuale
- elemente biologice :
  - Hb < 8 g/dl
  - PN < 500/mm3
  - Tr < 20.000/mm3

a) Anamneza

- antecedente hematologice (căutarea hemogramelor anterioare), neoplazice, tratamente cu citotoxice şi/sau radioterapie;
- profesiunea pacientului (expunerea la produse tip benzen/derivate sau radiaţii ionizante);
- teren cu risc pentru o infecţie cu HIV;
- consum medicamentos vechi şi recent;

- antecedente infecţioase recente, semne generale de tip anorexie, scădere ponderală, transpiraţii nocturne;
- febră, dureri osoase sau articulare.

b) Examen fizic

- sdr tumoral (splenomegalie, hepatomegalie, adenopatii);
- masă tumorală abdominală palpabilă, semne de hipertensiune portală;
- atingeri tumorale cutanate evocatoare de LES;
- semne neurologice, în special atingeri ale nervilor cranieni (sdr neuroanemic).

2. Examene complementare

a) Hemograma

- anomalii eritocitare : schizocite, dacriocite;
- mielemie, celule anormale circulante (blaşti, celule limfoide atipice ...);
- eritromielemie (evocă o mielofibroză, metastaze medulare);
- poichilocitoză şi hipersegmentare PN (carenţă în B12 sau folaţi);
- semne de dismielopoieză.

b) Numărătoare de reticulocite

- este un element important de orientare spre o cauză centrală (anemie aregenerativă) sau periferică (anemie regenerativă);
- linia eritrocitară este singura care poate da această informaţie.

c) In prezenţa oricărei trombocitopenii se impune

- un bilanţ al hemostazei, în căutarea unei CIVD :
  - aPTT, TP, fibrinogen, PDF, D-Dimeri (Latex);
- bilanţul transfuzional cuprinde :
  - grup ABO, rhesus, RAI;
  - serologii HIV, VHB, VHC;
  - TGO/TGP.

d) Bilanţ de sindrom inflamator

- VSH, proteina C reactivă, electroforeza proteinelor plasmatice.

e) Mielograma

- Este realizată în caz de pancitopenie de origine centrală (valoarea reticulocitelor).
- Fie măduva este bogată şi atunci este vorba de :
  - o infiltrare medulară cu celule tumorale maligne (insuficienţă medulară cantitativă);
  - o insuficienţă medulară calitativă (anemie megaloblastică, mielodisplazie).
- Fie măduva este saracă şi nu permite un diagnostic în cazul în care aspiratul arată o măduvă diluată. Se impune realizarea unei biopsii medulare care permite diferenţierea între aplaziile medulare (măduva cu adevărat săracă, fără infiltrare medualară sau fibroză) de alte patologii.
- Fie o mielogramă cu celularitate normală fără infiltrare tumorală - impune realizarea unei biopsii medulare (apalzie medulară cu măduvă heterogenă, infiltrare tumorală heterogenă).

3. Etiologii

a) Pancitopenii periferice

- sunt puţin frecvente şi se caracterizează prin asocierea :
  - unei anemii regenerative (reticulocite > 120.000/mm^3);
  - unei măduve bogate, hiperplazice cu megakariocite prezente şi normale;
- hipersplenism (indiferent de etiologie) → pancitopenie moderată;
- lupus eritematos sistemic – asociază o anemie hemolitică autoimună, o trombocitopenie şi o leuconeutropenie;
- sdr Felty (asocierea unei Poliarterite Reumatoide cu splenomegalie şi neutropenie);
- micro-angiopatii trombotice :
  - cauze de bicitopenie : trombopenie periferică uneori cu CIVD urmând etiologic unor micro-angiopatii trombotice asociate unei anemii hemolitice de origine mecanică (prezenţa de schizocite pe frotiu).

b) Pancitopenii de origine centrală

- sunt mai frecvente
- se caracterizează prin reticulocitoză scăzută (anemie aregenerativă)
- invadare medulară prin proliferare malignă :
  - mielograma permite diagnosticul de leucemie acută, mielom multiplu, altă hemopatie limfoidă, metastaze...
  - biopsia osteomedulară este uneori utilă pentru a afirma dg de boală Hodgkin, LMNH, leucemie cu tricoleucocite, metastaze
- anemie megaloblastică :
  - mielograma - în prezenţa unei pancitopenii, poate evidenţia o anemie megaloblastică prin deficit în folaţi sau vitamina B12
- sdr mielodisplazice :
  - diagnosticul este afirmat de o mielogramă care evidenţiază semne de dismielopoieză
- mielofibroze :
  - sunt definite prin densificarea reţelei de reticulină
  - manifestările mielofibrozei sunt :
    - citopenii sanguine;
    - o mielemie şi eritroblaşti circulanţi;
    - o anomalie morfologică a eritrocitelor (hematii *in para* sau *in lacrima* = dacriocite)
  - la puncţia medulară, osul este dur şi aspiraţia dificilă (maduvă diluată cu sânge), chiar imposibilă
  - BOM cu coloraţia adecvată arată existenţa mielofibrozei. Permite şi un diagnostic etiologic

  - Etiologii :
    - mielofibroza primitivă cu metaplazia mieloidă a splinei (splenomegalia mieloidă)
    - alte sdr mieloproliferative pot asocia o fibroză medulară la diagnostic sau să evolueze ulterior către mielofibroza cu metaplazie mieloidă a splinei, în special boala Vaquez
    - mielofibrozele secundare sunt legate de infiltrări medulare prin celule tumorale maligne, hemopatii sau metastaze
    - orice leucemie acută, în special LAM M7 (+), se poate asocia cu o mielofibroză
    - leucemia cu tricoleucocite
    - radiaţii ionizante (mielogramă noninformativă în zonele iradiate)

c) Aplazii medulare

Vezi capitolul

d) Alte etiologii

- Leishmanioza viscerală (Kala-Azar) :
  - pancitopenie febrilă cu hepato-splenomegalie la un subiect care a făcut un sejur într-o ţară endemică (bazinul mediteraneean, India, Asia, Africa) sau la subiecţii seropozitivi HIV;
  - diagnostic : mielograma arată prezenţa de leishmania la nivelul macrofagelor.
- Tuberculoza organelor hematopoietice (rară) :
  - alterarea stării generale, febră, splenomegalie şi pancitopenie;
  - diagnostic : mielocultură şi BOM.
- Infecţia cu HIV antrenează frecvent citopenii şi uneori pancitopenii datorate:
  - virusului însuşi (mecanism complex central şi periferic);
  - medicamentelor : AZT, Cymevan®, Bactrim®;
  - infecţiilor : citomegalovirus, micobacterii, toxoplasmoză, tuberculoză, leishmanioză, parvovirus B19;
  - hemopatiilor : LMNH, leucemii acute sau limfom tip Burkitt, boală Hodgkin sau hemofagocitoză primitivă sau secundară.

MIELEMIA ŞI CELULELE ANORMALE ÎN SÂNGE

1. Mielemia

- Mielemia este definită prin prezenţa în sânge a precursorilor granulocitari : mieloblaşti, promielocite, mielocite, metamielocite.
- O mielemie tranzitorie de 1-2% din leucocite compusă din mielocite şi metamielocite nu are semnificaţie patologică.

- Mielemia este echilibrată (sau fără hiatus de maturaţie) dacă reprezentarea diferiţilor precursori este proporţională cu stadiul lor de maturaţie (PN > metamielocite > mielocite > promielocite > mieloblaşti).
- Prezenţa precursorilor eritrocitari în sângele periferic se numeşte eritroblastemie. Asocierea celor două elemente poartă denumirea de eritromielemie.
- Se deosebesc mielemiile reactive de cele primitive asociate hemopatiilor mieloide, în special sdr mieloproliferative.

a) Mielemia fiziologică

- La noul născut, mai ales prematur, se regăseşte adesea o eritromielemie. Aceasta poate fi stimulată de o infecţie neonatală.
- O mielemie este evidenţiată şi la sfârşitul sarcinii, fără semnificaţie patologică.

b) Mielemii reactive

- Infecţii :
  - septicemii, pneumopatii, abcese profunde
  - tuberculoză, mai ales a organelor hematopoietice
- Mielemie de regenerare :
  - după o neutropenie : agranalulocitoză, aplazie post-chimioterapie…
  - administrarea de G-CSF
  - hemoliză sau hemoragii acute (eritromielemie)
  - după o splenectomie
- Sindroame inflamatorii :
  - cancere, boala Hodgkin, LMNH
  - boală inflmatorie sistemică în pusee
  - necroze tisulare : pancreatite, rabdomioliză, arsuri…
- Infiltrare medulară :
  - metastaze (eritromielemie, anemie, trombopenie)
  - leucemie acută sau limfom Burkitt, altă hemopatie cu evoluţie rapidă
- Etiologii metabolice :
  - acidoză
  - insuficienţă renală acută

c) Mielemii primitive

- Leucemie granulocitară cronică - vezi capitolul
- Splenomegalie mieloidă – vezi capitolul
- Leucemii acute mieloblastice :
  - formele cu diferenţiere granulocitară reziduală (M2, M3, M4, M6) pot prezenta o mielemie dezechilibrată (hiatus de maturare datorat unui exces al celulelor imature). Diferenţierea granulocitară este adesea anormală, dismielopoiezã.
- Leucemia mielomonocitară cronică (LMMC) :
  - patologie a subiecţilor vârstnici (peste 70 ani), la graniţa între mielodisplazie şi mieloproliferare

  - clinică : splenomegalie
  - hemogramă : mielemie moderată, monocitoză> 1.000/mm^3
  - mielogramă : dismielopoiezã şi exces de monocite distrofice
  - diagnostic diferenţial : căutarea transcriptului BCR/ABL negativ, fără cauze de monocitoză reacţională (+)
  - evoluţie : progresia splenomegaliei, leucocitozei, agravarea citopeniilor, acutizare în LAM
  - tratament : similar celui din splenomegalia mieloidă
- Leucemia mielomonocitară juvenilă :
  - sindrom mieloproliferativ al copilului
- Alte sindroame mieloproliferative sau leucemii mieloide cronice atipice

2. Alte celule anormale

a) Eritroblastemie

- prezenţa de eritroblaşti în sânge
- etiologii :
  - regenerarea după o hemoliză sau hemoragie acută, însoţită de o creştere a procentului de reticulocite
  - infiltrarea medulară acută (metastază, limfom agresiv, leucemie acută)
  - mielofibroza (prezenţă de dacriocite)

b) Sindrom mononucleozic

c) Celule limfoide atipice

- faza leucemică a LMNH (folicular, cu celule de manta, cu celulă B din zona marginală)
- leucemia cu celule limfoide mature :
  - limfocite B : LLC, leucemia prolimfocitară B, leucemia limfoplasmocitară
  - limfocite T : leucemia cu celule T a adultului (legată de HTLV-I), leucemia cu limfocite granulocitare mari, sdr Sezary, leucemie prolimfocitară T

d) Tricoleucocite

- celule limfoide B de cu morfologie particulară, cu citoplasmă « păroasă »
- în general, absenţa monocitului circulant
- diagnosticul este confirmat prin imunofenotiparea acestor celule

e) Plasmocitoză sanguină

- Prezenţa în 5-10% din mieloame trebuie diferenţiată de leucemia cu plasmocite (hiperleucocitoza cu plasmocitoza > 20 %).
- Sindroamele mononucleozice se pot asocia cu o plasmocitoză. Chiar dacă diagnosticul cel mai frecvent este de MNI, plasmocitoza poate fi observată mai ales în alte etiologii (virale, parazitare, medicamentoase).
- Limfadenopatia angioimunoblastică este o forma rară de LMNH cu celula T care se asociază cu o plasmocitoză sanguină polimorfă.

EXAMINAREA MĂDUVEI OSOASE

Examenul măduvei osoase este indispensabil în demersul diagnosticului afecţiunilor hematologice. Examenul medular poate viza un aspect citologic – mielograma, şi unul histologic – biopsia osteomedulară.

PUNCŢIA MEDULARĂ - MIELOGRAMA

Puncţia medulară reprezintă tehnica prin care se obţine "suc medular", care apoi este etalat în strat subţire pe lame, colorat şi examinat la microscop (mielograma). Puncţia se realizează cu un trocar special. Puncţia se poate executa la nivelul sternului (manubriumul sternal, pe linia mediană, în dreptul primului spaţiu intercostal) sau la nivelul spinei iliace postero-superioare, permiţând extragerea de măduvă osoasă pentru a o analiza din punct de vedere cantitativ şi calitativ.

Mielograma permite analiza morfologiei şi echilibrului între diferitele populaţii celulare prezente în măduvă. Mielograma este realizată, de principiu, în cazurile în care hemoleucograma a pus în evidenţă anomalii cantitative şi/sau calitative ale celulelor sanguine. Permite aprecierea cantitativă şi calitativă a diferiţilor precursori ai liniilor celulare sanguine şi, eventual, punerea în evidenţă a unor celule anormale (celule neoplazice – metastatice sau blaşti leucemici).

INDICAŢII

Sunt destul de precise, acoperind toate suspiciunile de afecţiuni hematologice. In caz de

- anemii macrocitare
- leucocitoze şi leucopenii
- prezenţa de celule anormale în sânge
- splenomegalie, adenopatie
- febră inexplicabilă şi de lungă durată
- boală Waldeström (boală limfoproliferativă)
- mielom multiplu
- pancitopenie (scăderea tuturor globulelor din sânge – anemie, leucopenie, trombocitopenie), aregenerativă, fără cauze evidente
- diagnostic de leucemie
- explorarea unei trombocitopenii sau granulocitopenii

CONTRAINDICAŢII

Se referă la puncţia sternală :

- operaţii pe cord
- radioterapie care alterează măduva din stern
- copii şi sugari

Absolute :

- tulburări ale hemostazei

INCIDENTE ŞI ACCIDENTE

Sunt rare, dar nu imposibile :

- traumatism toracic
- puncţie albă – nu se poate aspira măduvă din cauza unei fibroze medulare, a unei hipercelularităţi medulare sau a obstruării acului prin fragment de periost sau os
- penetrare completă a sternului, cu lezare de vase mari (în general letal)
- ruperea acului de puncţie cu fragment restant în os

REZULTATE

Analiza microscopică a frotiului de sânge medular se desfăşoară în câteva etape care urmăresc :

- numărătoarea de megacariocite : numărătoarea de megacariocite pe 50 de câmpuri succesive cu obiectivul 10
- evaluarea bogăţiei celulare a măduvei osoase (apreciată prin densitatea celulară pe câmp cu un obiectiv microscopic de 100 – măduva normală se incadrează în clasele II-III)
    - clasa 0 – prezenţă inconstantă de celule, măduvă dezertică
    - clasa I - 1 - 5 celule / câmp, măduvă săracă
    - clasa II - 16 - 30 celule / câmp, măduvă hipoplazică
    - clasa III - 31 - 60 celule / câmp, măduvă normocelulară
    - clasa IV- > 60 celule / câmp, măduvă hiperplazică
        - atenţie ! un prelevat sărac poate semnifica o măduvă diluată cu sânge, o măduvă aplazică sau o fibroză medulară. Poate semnifica o tehnică greşită.
- proporţia diferitelor linii celulare
    - linia granulocitară (sau mielocitară) : 60 %
    - linia roşie (sau eritrocitară) : 25 %
    - liniile albe negranulocitare (limfocite, plasmocte şi monocite) : 15 %
- echilibrul între diferitele stadii de maturare în cadrul fiecărei linii celulare, adică raportul între celulele tinere (mai puţin numeroase) şi cele mai mature (cele mai numeroase)
- prezenţa de celule străine (non-autohtone) în măduvă
- prezenţa de celule blastice, în proporţie importantă în leucemiile acute
- deosebirea între originea centrală (medulară) şi una periferică (în sângele periferic) a unei sau unor citopenii

• Măduva normală este uşor de prelevat, bogată, fără celule străine în ţesutul hematopoietic.

• Arată o repartiţie armonioasă a diferitelor stadii de maturare a celulelor din fiecare linie celulară cu aspectul piramidal, în sensul în care celulele cele mai tinere sunt cele mai puţine, procentul crescând pe măsură ce celulele se diferenţiază şi se maturează.

• Se observă, printre altele, prezenţa de megakariocite (precursori trombocitari) cu aspect normal, nedismorfic.

• Se poate profita de prelevarea măduvei pentru mielogramă, pentru a realiza şi alte studii, în funcţie de patologie : studiul celulelor cu anticorpi monoclonali (imunofenotipare), studiul cromozomilor celulelor anormale (cariotipul celulelor tumorale în citogenetică), mielocultură pentru căutarea bacilului Khoch, etc.

1. Examenul liniei eritrocitare

Permite determinarea procentajului de eritroblaşti medulari, 15-25% la adult, dar trebuie ţinut cont şi de celularitatea frotiului, traducând realitatea sau calitatea prelevatului medular, de heterogenitatea frotiurilor (se face numărătoarea pe 500-1.000 celule) şi a măduvei (puncţia nu este decât un sondaj). Procentajul variază cu vârsta : 30-40 % la naştere, apoi, între 8 zile şi un an, 8-12 % .

Curba de maturaţie dă un procentaj diferit pe fiecare stadiu :

- proeritroblaşti - 4 %
- eritroblaşti bazofili - 16 %
- eritroblaşti policromatofili - 32 %
- eritroblaşti acidofili - 48 %

Anomalii cantitative

▪ eritroblastoză posthemoragică acută sau posthemoliză, anomalie corespunzând unei reticulocitoze crescute, mai uşor de recunoscut, însoţite uneori de anomalii calitative datorită carenţelor în fier, folaţi, vitamina B12, datorită hiperconsumului acestora ;

▪ eritroblastopenii

Anomalii calitative

▪ prezenţa unei macro-megalocitoze a seriei eritrocitare în deficitul de folaţi sau vitamina B12

▪ bbservarea unei diseritropoieze cu tulburări de condensare a cromatinei (anemii zise « refractare » simple - ARS)

▪ uneori sideroblastoză (anemii sideroblastice), observată numai la coloraţia Perls

2. Examenul liniei granulocitare

Valori normale :

▪ mieloblaşti	0 - 1%
▪ promielocite	2 - 6%
▪ mielocite neutrofile	8 - 25%
▪ mielocite eozinofile	0 - 4%

▪ mielocite bazofile	0 - 1%
▪ metamielocite neutrofile	5 - 20%
▪ metamielocite eozinofile	0 - 5%
▪ metamielocite bazofile	0 - 2%
▪ polinucleare neutrofile	10 - 30%
▪ polinucleare eozinofile	0 - 2%
▪ polinucleare bazofile	0 - 1%

▪ Procentajele trebuie să rămână stabile (metamielocitele şi polinuclearele traduc faza de maturaţie).

Anomalii cantitative :

• hiperplazie granulocitară globală în unele sindroame mieloproliferative : leucemia granulocitară cronică neacutizată, mielofibroză la debut

• hiperplazie neutrofilă în procesele infecţioase

• hiperplazie eozinofilă

• rar, hiperplazie bazofilă

• agranulocitoză - dispariţia liniei granulocitare deutrofile (adesea medicamentoasă), dând un aspect de "blocaj de maturaţie" mai mult sau mai puţin înalt

Anomalii calitative :

• tendinţa la macrocitoză în carenţa de folaţi, vitamina B12, mai evidentă în stadiile de mielocit şi metamielocit, mai sensibile decât la linia eritrocitară în carenţele fruste (Biermer decapitat)

• prezenţa de granulaţii zise "toxice" în caz de sindrom infecţios sever

• dismielopoieză mergând până la prezenţa de blaşti în sdr mielodisplazice cu exces de blaşti şi invazia blastică în leucemiile acute mieloblastice

3. Examenul liniei megacariocitare

Linia megakariocitară reprezintă mai puţin de 1 % din celulele medulare, megacariocitele sunt mai uşor de identificat datorită taliei lor gigante.

Anomalii cantitative :

▪ hipo sau amegacariocitoză cu trombocitopenie, în general dobândite prin infiltrare medulară cu celule patologice (leucemii , mielom, cancere metastatice) sau post-radio- şi/sau chimioterapie

▪ hipermegacariocitoze din sindroamele inflamatorii, cancere sau reacţionale la o trombocitopenie periferică, precum în PTI, toxice sau postinfecţioase

Anomalii calitative :

• dismielopoieză în carenţele vitaminice sau în sdr mielodisplazice : aspect polilobat şi gigantism/respectiv micromegakariocite

• Măduva normală este uşor de prelevat, bogată, fără celule străine în ţesutul hematopoietic.

• Arată o repartiţie armonioasă a diferitelor stadii de maturare a celulelor din fiecare linie celulară cu aspectul piramidal, în sensul în care celulele cele mai tinere sunt cele mai puţine, procentul crescând pe măsură ce celulele se diferenţiază şi se maturează.

• Se observă, printre altele, prezenţa de megakariocite (precursori trombocitari) cu aspect normal, nedismorfic.

• Se poate profita de prelevarea măduvei pentru mielogramă, pentru a realiza şi alte studii, în funcţie de patologie : studiul celulelor cu anticorpi monoclonali (imunofenotipare), studiul cromozomilor celulelor anormale (cariotipul celulelor tumorale în citogenetică), mielocultură pentru căutarea bacilului Khoch, etc.

1. Examenul liniei eritrocitare

Permite determinarea procentajului de eritroblaşti medulari, 15-25% la adult, dar trebuie ţinut cont şi de celularitatea frotiului, traducând realitatea sau calitatea prelevatului medular, de heterogenitatea frotiurilor (se face numărătoarea pe 500-1.000 celule) şi a măduvei (puncţia nu este decât un sondaj). Procentajul variază cu vârsta : 30-40 % la naştere, apoi, între 8 zile şi un an, 8-12 % .

Curba de maturaţie dă un procentaj diferit pe fiecare stadiu :

- proeritroblaşti - 4 %
- eritroblaşti bazofili - 16 %
- eritroblaşti policromatofili - 32 %
- eritroblaşti acidofili - 48 %

Anomalii cantitative

▪ eritroblastoză posthemoragică acută sau posthemoliză, anomalie corespunzând unei reticulocitoze crescute, mai uşor de recunoscut, însoţite uneori de anomalii calitative datorită carenţelor în fier, folaţi, vitamina B12, datorită hiperconsumului acestora ;

▪ eritroblastopenii

Anomalii calitative

▪ prezenţa unei macro-megalocitoze a seriei eritrocitare în deficitul de folaţi sau vitamina B12

▪ bbservarea unei diseritropoieze cu tulburări de condensare a cromatinei (anemii zise « refractare » simple - ARS)

▪ uneori sideroblastoză (anemii sideroblastice), observată numai la coloraţia Perls

2. Examenul liniei granulocitare

Valori normale :

▪ mieloblaşti	0 - 1%
▪ promielocite	2 - 6%
▪ mielocite neutrofile	8 - 25%
▪ mielocite eozinofile	0 - 4%

▪ mielocite bazofile	0 - 1%
▪ metamielocite neutrofile	5 - 20%
▪ metamielocite eozinofile	0 - 5%
▪ metamielocite bazofile	0 - 2%
▪ polinucleare neutrofile	10 - 30%
▪ polinucleare eozinofile	0 - 2%
▪ polinucleare bazofile	0 - 1%

▪ Procentajele trebuie să rămână stabile (metamielocitele şi polinuclearele traduc faza de maturaţie).

Anomalii cantitative :

• hiperplazie granulocitară globală în unele sindroame mieloproliferative : leucemia granulocitară cronică neacutizată, mielofibroză la debut

• hiperplazie neutrofilă în procesele infecţioase

• hiperplazie eozinofilă

• rar, hiperplazie bazofilă

• agranulocitoză - dispariţia liniei granulocitare deutrofile (adesea medicamentoasă), dând un aspect de "blocaj de maturaţie" mai mult sau mai puţin înalt

Anomalii calitative :

• tendinţa la macrocitoză în carenţa de folaţi, vitamina B12, mai evidentă în stadiile de mielocit şi metamielocit, mai sensibile decât la linia eritrocitară în carenţele fruste (Biermer decapitat)

• prezenţa de granulaţii zise "toxice" în caz de sindrom infecţios sever

• dismielopoieză mergând până la prezenţa de blaşti în sdr mielodisplazice cu exces de blaşti şi invazia blastică în leucemiile acute mieloblastice

3. Examenul liniei megacariocitare

Linia megakariocitară reprezintă mai puţin de 1 % din celulele medulare, megacariocitele sunt mai uşor de identificat datorită taliei lor gigante.

Anomalii cantitative :

▪ hipo sau amegacariocitoză cu trombocitopenie, în general dobândite prin infiltrare medulară cu celule patologice (leucemii , mielom, cancere metastatice) sau post-radio- şi/sau chimioterapie

▪ hipermegacariocitoze din sindroamele inflamatorii, cancere sau reacţionale la o trombocitopenie periferică, precum în PTI, toxice sau postinfecţioase

Anomalii calitative :

• dismielopoieză în carenţele vitaminice sau în sdr mielodisplazice : aspect polilobat şi gigantism/respectiv micromegakariocite

BIOPSIA OSTEOMEDULARĂ

Biopsia osteomedulară reprezintă prelevarea unui fragment osos cilindric care conţine măduvă osoasă, cu ajutorul unui trocar de la nivelul spinei iliace postero-superioare permiţând un studiu histo-citologic.

INDICAŢII

Toate suspiciunile de afecţiuni hematologice...

CONTRAINDICAŢII

- tulburări severe ale hemostazei
- alergie la anestezicele locale

PRECAUŢII PARTICULARE

- realizarea unui bilanţ al hemostazei
- în caz de tratament anticoagulant, se recomandă oprirea acestuia cu 48 – 72 ore înainte de biopsie, pentru a fi reluat ulterior
- realizarea grupului sanguin ABO/Rh
- premedicaţie

EXPLORAREA HEMOSTAZEI

INTRODUCERE

Explorarea hemostazei constituie o etapă fundamentală în stabilirea diagnosticului de boală şi în precizarea deficitului care a condus la manifestările hemoragice sau trombotice. Abordarea investigaţiilor se face diferit în funcţie de antecedentele hemoragice sau trombotice ale pacientului. Fiecare etapă a hemostazei poate fi investigată prin teste globale, care apreciază etapa în totalitate, şi teste specifice, pentru evaluarea fiecărui factor implicat.

Factorii hemostazei şi celulele implicate în proces pot să se activeze în afara organismului, în contact cu sticla, alte suprafeţe, extracte celulare şi tisulare, falsificând rezultatele. Aceasta impune o serie de reguli în prelevarea sângelui :

- pacientul trebuie să fie în repaus, calm, de preferinţă *à jeun*. Efortul fizic şi stresul pot antrena activarea plachetară a factorului VIII, trombocitoza, activarea fibrinolizei;
- garoul trebuie să nu fie prea strâns şi trebuie îndepărtat cât mai repede. Staza venoasă poate activa factorul VIII, fibrinoliza, poate induce o hemoconcentraţie;
- se preferă o venă mai mare, la plica cotului;
- puncţia se va face cât mai atraumatic, iar primii mililitri trebuie aruncaţi, pentru că pot conţine resturi tisulare ce pot activa hemostaza;
- se va alege un tub de sticlă siliconată sau de plastic tip polipropilen pentru evitarea activării de contact, cu excepţia prelevărilor pentru retracţia cheagului, timpul de consum al protrombinei, dozarea PDF, care se fac pe sticlă;
- prelevarea se face pe anticoagulant care, în hemostază, este Citratul de sodiu 0,109M. Acesta este un chelator rapid de calciu. Este esenţial de a păstra un raport sânge total/anticoagulant de 9/1. Când hematocritul este anormal (poliglobulie), trebuie adaptat volumul de citrat conform formulei :

$$\text{Volumul de citrat} = \text{Volumul de sânge} \times (1 - \text{Ht})/ 4{,}5 ;$$

- uneori poate fi necesară asocierea unui antiagregant;
- sângele trebuie centrifugat pentru a separa plasma de elementele celulare. Viteza se adaptează pentru a obţine o plasmă bogată în plachete (100g 15') sau fără plachete (2000g 10').

EXPLORAREA HEMOSTAZEI PRIMARE

Explorarea ei se face în funcţie de prezenţa unor manifestări hemoragice sau trombotice.

HEMORAGII

1. Timpul de sângerare – reprezintă timpul după care o sângerare creată de o incizie cutanată superficială se opreşte spontan. Este un test de evaluare globală a acestei etape.

→ ***Metoda Duke*** - măsoară durata sângerării după o incizie orizontală la nivelul lobului urechii. Normal : 2-4 minute. Abandonată în general, datorită dificultăţii de standardizare.

→ ***Metoda Ivy-incizie*** - măsoară durata de sângerare la nivelul a două incizii pe faţa antero-externă a antebraţului, paralele între ele şi perpendiculare pe plica cotului, cu o lungime de 1cm şi profunzime de 1 mm, sub o presiune de 4 cm Hg (manşon tensiometru). Normal : sub 10 min. Este metoda cea mai standardizabilă.

→ ***Metoda Ivy-3 puncte*** - ca mai sus, dar se fac trei puncţii. Normal : sub 6 minute.

Alungirea timpului de sângerare trebuie să antreneze căutarea unei anomalii plachetare (trombocitopenii şi trombocitopatii), vasculare sau plasmatice (boala von Willebrand, afibrinogenemie), consumul de medicamente cu acţiune anti-agregantă plachetară (acidul salicilic).

2. Testul de fragilitate vasculară (Rumple-Leede) - supravegherea apariţiei de peteşii la nivelul antebraţului după aplicarea unui garou cu o presiune egală cu media între Tsist şi Tdiast timp de 5-10 min. Apariţia de peste 10 peteşii semnifică test pozitiv. Testul dă indicaţii asupra situaţiei morfofuncţionale a sistemului capilar.

3. Numărătoarea de plachete - se realizează pe sânge venos recoltat pe EDTA sau pe sânge capilar recoltat fără anticoagulant. Numărătoarea se poate face manual sau automatic. În caz de trombopenie observată pe sânge venos, se indică verificarea pe frotiul din sângele capilar, pentru a elimina pseudo-trombopenia legată de prezenţa de agregate provocate uneori de EDTA. În plus, se apreciază morfologia trombocitară pe frotiul de sânge periferic.

4. Testele de funcţionalitate plachetară : diagnosticul deficitului funcţional se bazează pe trei teste, toate realizabile doar în laboratoare specializate :

a) Studiul agregării plachetare - se realizează în agregometru prin măsurarea variaţiilor de transmisie optică a unei plasme citratate bogate în plachete aflată în agitaţie continuă la 37° C şi pusă în prezenţa unor agenţi agreganţi : ADP, colagen, acid arahidonic, ristocetină.

- ADP în concentraţii mici (0,5M) provoacă o schimbare de formă a plachetelor care devin sferice, opunându-se şi mai mult la trecerea luminii, apoi urmează o agregare reversibilă fără eliberarea conţinutului granular. Crescând concentraţia ADP, agregarea devine ireversibilă, datorită asocierii excreţiei granulare de serotonină şi activării plachetare;
- colagenul determină o agregare ireversibilă datorită eliberării de ADP, serotonină şi sinteza de TxA2 ;
- acidul arahidonic provoacă agregare plachetară ireversibilă prin sinteza de TxA2;

- ristocetina favorizează formarea de legături între membrana plachetară şi factorul Willebrand cu aglutinare.

Inductorii permit clasificarea trombocitopatiilor :

- deficitele de agregare sunt caracterizate prin absenţa sau diminuarea variaţiei optice cu ADP, colagen, acid arahidonic, şi agregare normală cu ristocetină. Este cazul trombasteniilor (anomalii ale complexului GP IIb-IIIa), care asociază şi tulburări de retracţie a cheagului;
- deficitele de excreţie prezintă o agregare reversibilă la ADP, dar nulă la colagen şi normală la ristocetină. Este cazul absenţei granulelor dense (agregare normală cu acid arahidonic), sau deficit în sinteza TxA2 (agregare nulă la acid arahidonic);
- anomalie complex GP Ib-IX (Bernard-Soulier) - aglutinarea la ristocetină este anormală, dar normală cu restul. Aspectul e variabil în boala Willebrand, în funcţie de formă.

b) Studiul excreţiei granulelor dense - se evaluează prin dozajul prin bioluminescenţă a nucleotidelor eliberate sau prin măsurarea serotoninei marcate din plachetele marcate în prealabil şi stimulate.

c) Studiul consumului de protrombină - deficitul unor activităţi coagulante plachetare (factor 3, fixarea factorilor coagulanţi, activitatea de formare a produsului de contact) poate duce la un deficit în consumul protrombinei, în condiţiile normalităţii căii intrinseci.

La acestea se pot asocia :

e) ***Adezivitatea trombocitară*** - se apreciază prin determinarea scăderii numărului de trombocite în sângele proaspăt, care trece printr-un tub de sticlă conţinând perle de sticlă, poziţionat vertical. Reducerea normală este între 26 - 60 %. Sub 25%, semnifică hipoadezivitatea semnalată în boli precum sindroamele mieloproloferative, boala Willebrand, boala Waldenstrom.

f) ***Determinarea retracţiei cheagului*** – apreciază acţiunea trombodinamică a trombosteninei asupra cheagului de fibrină. Se realizează prin introducerea a 5 ml sânge recoltat prin puncţie venoasă într-un tub de sticlă pus în baie de apă menţinută la 37°C şi citire la 4 ore. În mod normal, serul expulzat la 4 ore este între 30-45% din volum. Scăderea valorilor sunt semnalate în trombocitopenii severe şi poliglobulii.

5. Dozarea factorului von-Willebrand şi evaluarea calitativă.

6. Dozarea fibrinogenului - numai fibrinogenopeniile severe pot antrena o alungire a timpului de sângerare.

TROMBOZE

1. Căutarea unei hiperplachetoze

2. Evaluarea activării plachetare - se face numai la distanţă de o tromboză, pentru a aprecia riscul trombotic. Se realizează prin dozarea plasmatică a beta-tromboglobulinei şi factorului 4 plachetar sau dozarea urinară a metaboliţilor TxA_2.

EXPLORAREA COAGULĂRII

TESTE GLOBALE

1. Timpul de coagulare (Lee-White) - măsoară viteza de coagulare a sângelui total, recoltat prin puncţie venoasă într-un tub de sticlă, în absenţa unui anticoagulant. Contactul cu sticla declanşează calea intrinsecă. TC < 10 min la 37°C. Este un test puţin sensibil, în general abandonat.

2. Timpul de recalcifiere a plasmei (Howell) - timpul de cogulare a unei plasme oxalatate sau citratate, bogate în plachete, introduse într-un tub de sticlă şi recalcificate. Explorează factorii de coagulare ai căii intrinseci şi commune (V, VIII, IX, X, XI, XII, fibrinogen) şi plachetele. TH normal = 70"-120". Este lipsit de sensibilitate, dar poate fi sensibilizat prin adăugarea de heparină - ***testul de toleranţă la heparină***. Acesta decelează stările de hipocoagulabilitate frustă în care timpul de coagulare poate fi normal (trombocitopenii, hemofilii fruste, post-partum, postoperator).

3. Timpul de cefalină activat (TCA) sau timpul de tromboplastină parţial activată (aTTP)

- Reprezintă timpul de coagulare a unei plasme lipsite de plachete şi citratate, recalcificate în prezenţa unui substitut al lipidelor plachetare (cefalină) şi a unui activator al fazei de contact (kaolin sau altele).
- Acest test explorează calea intrinsecă :
  - este sensibil în deficitul factorilor de contact (kininogen, prekalikreină, XII, XI) şi al factorii IX, VIII, fibrinogen;
  - este mai puţin sensibil la deficitele de factor II, V şi X (deficit de vitamina K).
- Normal : valoarea TCA pacient nu trebuie să depăşească de 1,2 ori TCA martor – realizat pe plasma de la un martor sănătos.
- Orice alungire a TCA trebuie să determine realizarea unui test de corecţie a serului de la pacient cu serul martor (TCA M+T) :
  - dacă TCA se corectează, este vorba de un deficit al unuia sau al mai multor factori ai căii intrinseci (deficit constituţional sau dobândit);
  - dacă TCA se menţine alungit, este vorba de prezenţa în serul pacientului a unui anticoagulant circulant (ACC) dirijat împotriva unui factor al căii intrinseci.

4. Timpul de protrombină (Timp Quick)

- Reprezintă timpul de coagulare a unei plasme fără plachete şi citratate, după adăugarea unui exces de tromboplastină tisulară.
- Explorează factorii coagulării din calea extrinsecă (VII) şi din cea comună (factorii X, V şi fibrinogen).
- Rezultatele sunt exprimate în procent prin raportarea la un martor – indicele Quick (IQ) sau printr-un raport INR (International Normalised Ratio) ce se obţine prin ridicarea IQ la

puterea ISI (indice de calibrare a reactivului utilizat în raport cu o tromboplastină standard internaţională). INR permite o comparare corectă a rezultatelor între diferite laboratoare.

- Prezenţa de heparină face rezultatul neinterpretabil.
- Este sensibil la deficitul în factorii VII, X, V, II ereditar/câştigat sau asociat cu deficitul în vitamină K, fibrinopenii/patii severe, prezenţa de anticoagulante, CID, fibrinoliza primară.
- Este un test util în supravegherea tratamentului cu anticoagulante orale din familia anti-vitamine K.

5. Consumul de protrombină (TCP)

- Reprezintă timpul Quick realizat pe un ser în prezenţa de fibrinogen, la 4 ore de la coagulare.
- În mod normal, coagularea duce la consumul protrombinei cu cvasi-dispariţia sa din ser, iar TQ realizat mai tîrziu este alungit, peste 25".
- Anomaliile pe calea intrinsecă duc la scăderea consumului de protrombină cu persistenţa ei şi scurtarea timpului Quick realizat după 4 ore de la coagulare.
- Testul este alterat în caz de hemofilie (Aşi B) şi în deficitul în factori XII, XI, X şi V, trombocitopenii/patii.

6. Timpul de trombină (TT)

- Reprezintă timpul de coagulare a unei plasme după introducerea unei cantităţi cunoscute de trombină.
- Explorează etapa finală a coagulării, fibrinoformarea, cu scurt-circuitarea primelor etape ale coagulării.
- Rezultatele se exprimă în secunde prin raportare la un martor. TT = 20"-30".
- Este influenţat de cantitatea şi calitatea fibrinogenului şi de prezenţa eventuală a unui inhibitor al fibrinoformării (heparină, PDF).
- Pentru verificare, se repetă testul pe un amestec în părţi egale de plasmă de testat şi plasmă normală. Corectarea timpului sugerează un deficit cantitativ sau calitativ al fibrinogenului, în timp ce necorectarea TT sugerează o hiperfibrinogenemie sau prezenţa unui anticoagulant circulant.

7. Timpul de reptilază - timp de coagulare a plasmei în prezenţa reptilazei (un venin de şarpe Bothrops Atrox) care transformă fibrinogenul în fibrină. Spre deosebire de trombină este insensibil la heparină, permiţând identificarea cazurilor de alungire TCA datorită prezenţei de heparină.

8. Solubilitatea cheagului – cheagul rezultat din coagularea plasmei oxalatate prin recalcifiere este introdusă în soluţie de uree sau acid monocloracetic. În această soluţie, fibrina normală este insolubilă şi cheagul se menţine peste 24 ore. În cazul pacienţilor cu deficit în factor XIII, cheagul se dizolvă complet în 2-3 ore şi respectiv 15 minute, în funcţie de soluţia utilizată (uree/acid monocloracetic).

TESTE SPECIFICE

1. Teste de dozare individuală a factorilor coagulării

- ***factorii XII, XI, X, IX, VIII:C, V, II*** pot fi dozaţi specific în funcţie de activitatea lor coagulantă. Dozarea se bazează pe capacitatea de corecţie, de către plasma de testat, a TCA al unei plasme substrat lipsite selectiv de factorul de coagulare de măsurat (teste cronometrice).
- ***dozarea fibrinogenului*** : în prezenţa unor concentraţii crescute de trombină şi concentraţii mici de fibrinogen, timpul de coagulare a unei plasme citratate este proporţional cu concentraţia de fibrinogen.
- ***timpul de Stypven*** - veninul de viperă Russel activează X şi transformă protrombina în trombină în prezenţa factorului V şi a fosfolipidelor plachetare. În absenţa unui deficit al celor doi factori, testul apreciază factorul 3 plachetar.
- alte metode de dozaj sunt
  - *metodele cromogene* (utilizate pentru prekalikreină, II, X, VIII:C, V, AT III, heparină, proteina C);
  - *metode imunologice* - electroimunodifuziune (pentru I, II, VIII:CAg, IX, AT III, proteina C, proteina S);
  - testele cromogene dozează activitatea factorului (aspectul calitativ), în timp ce testele imunologice dozează factorul sub aspect antigenic (aspect cantitativ). Pentru un factor dat, alterarea ambelor teste semnifică un deficit cantitativ al factorului, în timp ce alterarea testului cromogen cu un test imunologic normal semnifică prezenţa unui factor anormal morfofuncţional.

EXPLORAREA FIBRINOLIZEI

TESTE GLOBALE

1. Timpul de liză a cheagului prealabil diluat - normal peste 10 ore

2. Timpul de liză a euglobulinelor (von Kaula)

- Precipitarea euglobulinelor plasmatice cu acid acetic permite eliminarea aproape completă a inhibitorilor fibrinolizei în lichidul supernatant. Determinarea timpului de liză a cheagului euglobulinic în soluţia supernatantă permite determinarea activităţii fibrinolitice.
- Valoarea normală este de peste 90 min.
- Este un test indicat în CID şi în studiul pre-operator al bolnavilor în scopul aprecierii riscului dezvoltării unui sindrom fibrinolitic acut. În CID avansate, în care plasminogenul a fost consumat, timpul de liză va apărea normal (fals negativ). Testul este pozitiv (timpul mai scurt) la cei cu deficit în fibrinogen (cheag mai sărac în fibrină) şi la cei cu deficit în factor XIII (cheag mai puţin solid).

TESTE SPECIFICE

1. Dozarea plasminogenului – se utilizează teste cromogene (determină activitatea plasminogenului) sau imunologice (determină cantitativ plasminogenul).

2. Dozarea activatorilor (t-PA) – se utilizează metode cromogene sau imunologice. Scăderea concentraţiei este observată în boala tromboembolică şi în infarctul de miocard.

3. Dozarea inhibitorilor plasmatici ai activatorilor (PAI-1) – sunt disponibile câteva metode imunometrice (cantitative) şi amidolidice (calitative) de apreciere a acestor inhibitori. Concentraţia crescută a inhibitorilor este evidenţiată în boala tromboembolică şi în infarctul de miocard, putând constitui un factor de risc.

TESTE INDIRECTE

Pentru aceste teste, se recomandă recoltarea sângelui şi transferul rapid în tuburi conţinând trombină şi inhibitori ai fibrinolizei, pentru a evita fibrinoliza *in vitro*. Trombina are rolul de a declanşa rapid coagularea completă. Ca antifibrinolitic, se utilizează un inhibitor de tripsină care neutralizează plasmina şi previne fibrinoliza.

1. Dozarea PDF serici

- plasmina activată este o enzimă proteolitică tripsin-like, care clivează fibrina şi fibrinogenul cu eliberarea în circulaţie a unor fragmente denumite X, Y, D, E. Fragmentele D şi E pot fi dozate.
- Testul este pozitiv în coagularea intravasculară diseminată, în trombozele venoase profunde, emboliile pulmonare, după terapia trombolitică, dar şi în fibrinogenoliza primară.
- Testul nu poate diferenţia între PDF rezultaţi din fibrinogenoliză şi fibrinoliză, astfel încât, pentru precizarea diagnosticului, se asociază determinarea D-dimerilor.

2. Dozarea D-dimeri – după polimerizare, fibrina este stabilizată sub acţiunea factorului $XIII_a$ (transpeptidază), cu formarea de legături covalente între lanţurile alăturate. După clivarea fibrinei sub acţiunea plasminei, fragmentele D rămân legate covalent, cu prezenţa în circulaţie a fragmentelor D-dimeri. Ei sunt eliberaţi numai după liza fibrinei. D-dimerii sunt puşi în evidenţă prin aglutinare cu particule latex sau imunoenzimatic. Testul este specific pentru fibrinoliza secundară, permiţând eliminarea unei fibrinogenolize primare.

3. Dozarea fragmentelor D, E

4. Dozarea complexelor plasmină- alfa2-antiplasmină

EXPLORAREA UNUI PACIENT CU ANTECEDENTE HEMORAGICE

Problemele ridicate de un sindrom hemoragic sunt :

– recunoaşterea sindromului hemoragic şi tipul său
– evaluarea gravităţii hemoragiei
– iniţierea unui tratament simptomatic sau specific în caz de urgenţă
– diagnosticul etiologic.

Explorarea hemostazei la un pacient, cu atât mai mult la unul cu antecedente hemoragice, este indispensabilă în vederea depistării unei patologii constituţionale sau dobândite, legate de sângerare. Ca pentru orice tip de patologie, diagnosticul unei boli de hemostază se bazează pe triada : anamneză, examenul clinic şi examenele paraclinice.

Anamneza şi examenul clinic constituie etape obligatorii în algoritmul diagnostic, putând aduce informaţii esenţiale în orientarea acestuia. Elementele care trebuie urmărite sunt:

ANAMNEZA

❖ **antecedentele personale :**

- circumstanţele de apariţie - se vor cerceta accidentele hemoragice survenite ca urmare a unor traumatisme chirurgicale sau nechirurgicale, episoadele hemoragice nechirurgicale (echimoze spontane, sângerări prelungite la nivelul plăgilor minore, epistaxis recidivant…);
- secvenţialitatea traumatism – hemoragie → imediată sau tardivă - poate orienta spre o patologie a hemostazei primare sau a coagulării;
- frecvenţa şi caracteristicile episoadelor hemoragice;
- modul de manifestare a sângerărilor;
- vârsta de apariţie – poate orienta spre o patologie constituţională sau dobândită.

❖ **Antecedentele familiale** – prezenţa episoadelor hemoragice repetate la membrii familiei poate sugera o patologie ereditară.

❖ **Consumul de medicamente** care interferează cu procesul de hemostază (acid acetil salicilic, anti-inflamatorii, antiagregante, tratamente anticoagulante...) - în ultimile 7-8 zile care au precedat sângerarea.

❖ **Existenţa unei patologii cunoscute** ce poate antrena anomalii ale hemostazei :

- insuficienţa renală→ anomalii ale interacţiunii trombocite-perete vascular ;
- hepatopatii → trombocitopenie, deficit în factori ai coagulării;
- boli de sistem → trombocitopenii autoimune sau prezenţa unui anticoagulant circulant ;
- sindroame mieloproliferative → trombopatii.

EXAMENUL CLINIC

Va cuprinde căutarea semnelor de sângerare cutaneo-mucoasă, sângerari externe sau exteriorizate, sângerari interne, precum şi un examen general pentru depistarea de semne evocatoare pentru o patologie asociată (ca factor cauzal sau potenţiator). Va preciza :

1. tipul de sindrom hemoragic

- o purpură va evoca o anomalie a hemostazei primare :
  - este difuză, non-infiltrativă şi non-necrotică;
  - se poate însoţi de hemoragii cutaneo-mucoase;
  - este relevantă adesea pentru o trombocitopenie sau trombocitopatie.
- hematoamele profunde orientează către o anomalie a coagulării :

  - tabloul este divers, potrivit sediului hematomului (muscular, hemartroză, ORL, retro-orbitar...);
  - reprezintă urgenţe terapeutice.
- un sindrom hemoragic difuz orientează către un sdr de defibrinare :
  - tabloul asociază echimoze difuze, hemoragii la locul de puncţie.

3. Diagnostic de gravitate

- semnele de gravitate sunt legate de :
  - abundenţa sângerării : anemie acută cu tulburări hemodinamice, semne de şoc;
  - localizarea sângerării : hemoragie neuromeningee, hematom profund…
- unele *situaţii de urgenţă* :
  - purpura febrilă;
  - sindrom hemoragic difuz (CIVD, fibrinoliză).

INVESTIGAŢIILE PARACLINICE

La ora actuală, trei teste globale sau semi-globale sunt utilizate în prima intenţie pentru depistarea sau explorarea unei tendinţe hemoragice anormale. Acestea sunt : timpul de sângerare (TS), care explorează hemostaza primară, timpul de protrombină (TP), care explorează calea extrinsecă a coagularii, şi timpul de tromboplastină parţial activată (aPTT sau TCA), care explorează calea intrinsecă a coagulării.

1. Alungirea timpului de sângerare

TS este singurul test care permite o explorare *in vivo* a hemostazei primare. Deşi pune probleme metodologice care împiedică o standardizare, tehnica Ivy-incizie comercializată actual de diferite firme a ameliorat reproductibilitatea testului. Totuşi, TS rămâne un examen de interes limitat – reprezintă un examen complementar integrat în strategia diagnostică a unei simptomatologii hemoragice.

TS este considerat alungit atunci când depăşeşte 4 minute (metoda Duke) sau 10 minute (metoda Ivy). Înainte de interpretare, trebuie eliminate cauzele de eroare :

- eroare de procedură - se vor evita inciziile prea profunde sau vasodilataţia prin garou prea strâns ;
- tratament recent cu medicamente cu acţiune antri-agregantă trombocitară :
  - inhibitori de ciclooxigenază (Cox) - acidul acetil-salicilic (inhibitor ireversibil) şi anti-inflamatoriile nesteroidiene (inhibitori reversibili) ;
  - antiagregante plachetare (ticlopidină - Ticlid® ; clopidogrel - Plavix®);
  - antagonişti de GPIIbIIIa (abciximab - Reopro®; eptifibatid - Integrilin®; tirofiban - Agrastat®).
  - penicilină în doze mari, utilizată în terapia endocarditelor infecţioase;
  - inhibitori calcici, β-blocante
  - dextrani

▪ anemie severă - responsabilă de tulburări reologice, dar cu risc hemoragic scăzut în practica cotidiană. Hematocritul scăzut determină alungirea TS.

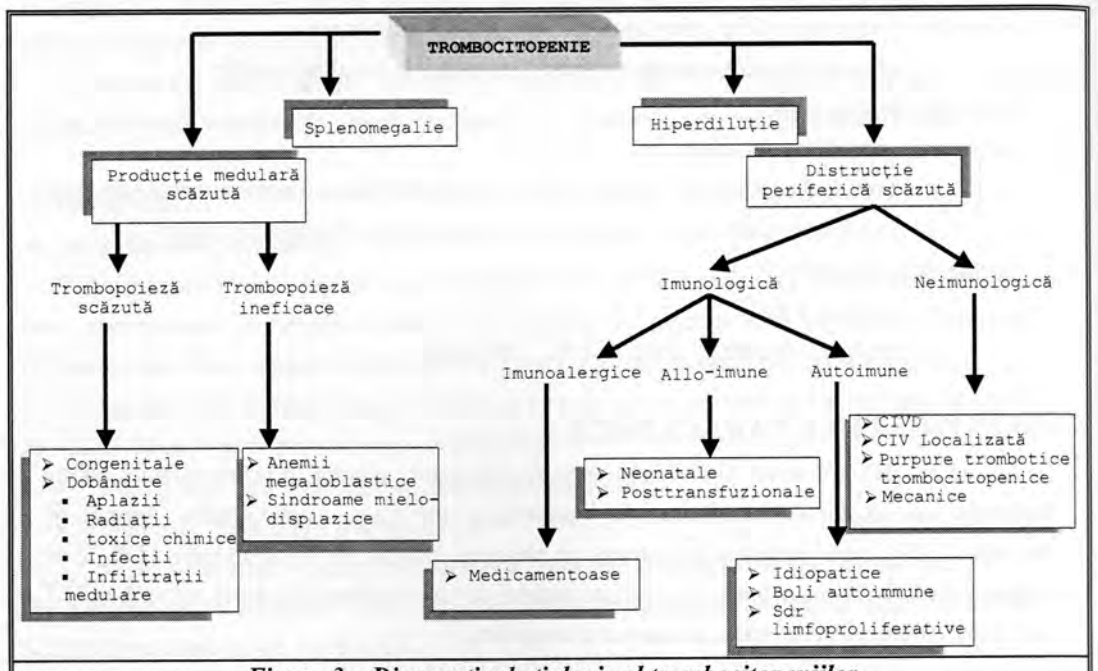


Figura 3 – Diagnosticul etiologic al trombocitopeniilor

În prezenţa unei alungiri a TS, în primul rând va fi evocată o trombocitopenie. Astfel, investigaţia de primă intenţie este hemograma. Aceasta are un dublu interes. Permite aprecierea răsunetului sistemic al sindromului hemoragic, şi în special asupra liniei eritrocitare. Pe de altă parte, face parte din bilanţul etiologic. În cazul depistării unei trombocitopenii, se va continua bilanţul în vederea stabilirii etiologiei acesteia (vezi ***Fig. 3***).

În cazurile în care numărul de trombocite este în limite fiziologice, bilanţul etiologic trebuie orientat către :

▪ ***Boala Willebrand***

o perturbarea altor teste ale coagulării cu alungirea aPTT şi TQ normal, diminuarea factorului VIII coagulant;

o diagnosticul este confirmat prin dozarea imunologică (vWFR:Ag) şi cromogenă/funcţională (vWFR:Co) a factorului;

o boala Willebrand poate fi dobândită (hemopatie limfoidă, boală autoimună).

▪ ***Anomalii ale coagulării*** (se va determina TP, aPTT) – hipo-/afibrinogenemie sau disfibrinogenemie, deficit în factor V sau în factor VII.

▪ ***Trombopatii*** (în contextul normalităţii testelor de coagulare şi FvW) - teste funcţionale plachetare (agregometrie) :

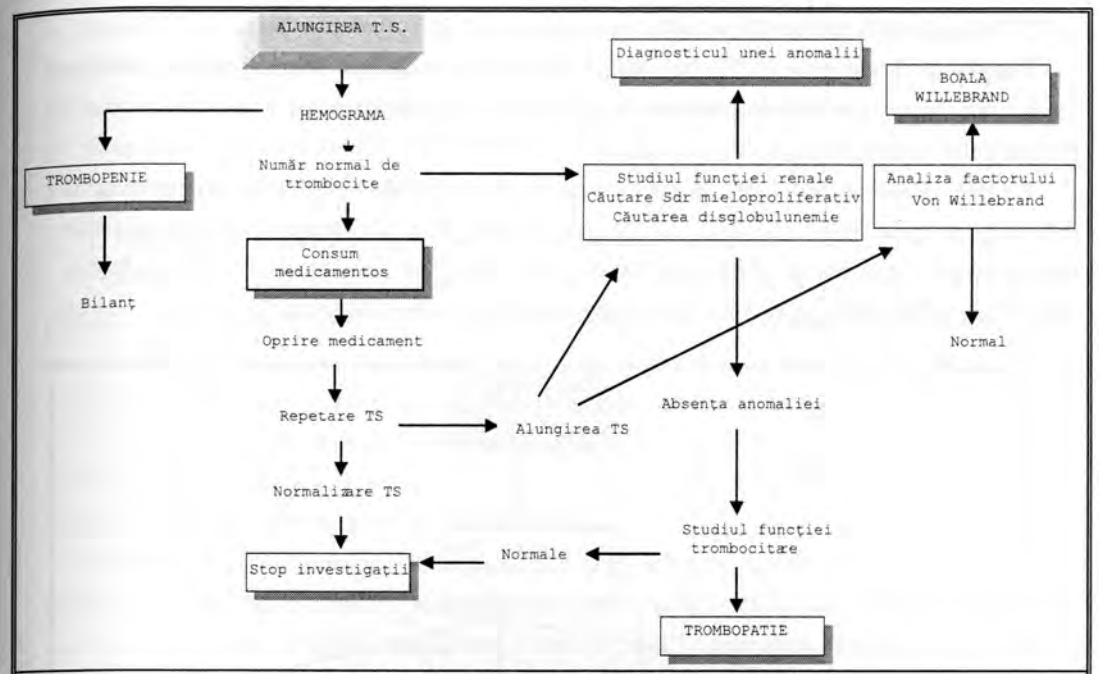


Figura 4 – Demers diagnostic în alungirea TS

a) Dobândite

- trombopatii medicamentoase
- imunglobuline monoclonale cu nivel crescut precum în Boala Waldenstrom sau în mielomul multiplu
- sindroame mieloproliferative
- insuficienţă renală cronică
- ciroză
- sdr Willebrand, în cadrul unui LES sau al unei hemopatii limfoide

b) Congenitale

- distrofie trombocitară hemoragică sau sindrom Bernard-Soulier prin deficit în glicoproteina GPIb. Diagnosticul se bazează pe prezenţa de trombocite gigante pe frotiu şi pe absenţa agregării plachetare la ristocetină.
- trombastenia Glanzmann prin deficit în glicoproteinele GPIIb/IIIa. Diagnosticul se bazează pe absenţa agregării la ADP, colagen şi trombină, agregarea la ristocetină este normală.
- deficit izolat în factorul 3 plachetar
- boala pool-ului vid
- sindromul trombocitelor cenuşii, anomalie a metabolismului acidului arahidonic (trombopatie "aspirin-like") sau prin deficite de ciclo-oxigenază sau tromboxan sintetază.

2. Alungirea izolată a timpului de protrombină (TP)

Timpul de protrombină (TP) reprezintă timpul de coagulare a unei plasme citratate recalcifiate în prezenţa tromboplastinei tisulare. TP este un test destinat explorării factorilor complexului protrombinic (II, V, VII şi X).

Trebuie remarcat faptul că nivelul crescut de factor tisular prezent în tromboplastină determină ca testul să fie insensibil faţă de factorii IX şi VIII. De asemeni, datorită prezenţei unui inhibitor heparinic în reactivul utilizat face ca testul să fie insensibil la concentraţiile terapeutice de heparină (şi deci inutil în supravegherea tratamentului heparinic).

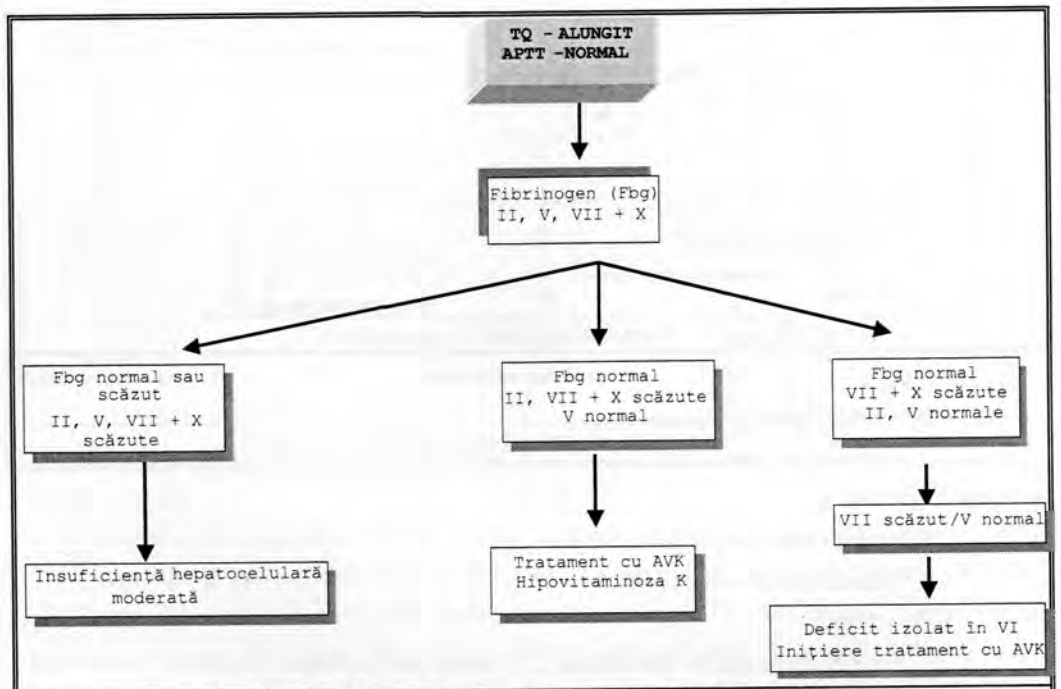


Figura 5 – Demers diagnostic în caz de TP alungit (izolat)

Alungirea semnificativă a TP este considerată atunci când IP < 70% sau INR > 1,5. Cauze de eroare pot fi :

- formarea unui cheag în tubul de prelevare – alungeşte artificial TP (test fals pozitiv) ;
- conservarea sângelui prelevat la 4^0C – scurtează TP cu posibila normalizare a unui test patologic (test fals negativ).

Alungirea izolată a TQ ne poate pune în faţa următoarelor ipoteze diagnostice (vezi ***Figura 5***) :

➢ ***carenţă în vitamina K*** - ceea ce duce la eliberarea de PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence) şi, deci, la un deficit în factorii II, VII şi X funcţionali. Deficitul poate fi : de aport, de absorbţie şi, mai ales, secundar tratamentului cu antivitamine K.

➢ ***insuficienţă hepatocelulară*** - în caz că este moderată, antrenează numai o carenţă în factorii dependenţi de vitamina K, iar, în formele severe, se asociază şi o carenţă în factorul V (TP este un test util în apreciarea prognosticului unei insuficienţe hepatice).

➢ ***coagulopatie de consum*** (CIVD) - pozitivare PDF

➢ ***deficit izolat în factor VII*** (dobândit sau constituţional).

3. Alungirea izolată a timpului de tromboplastină parţial activată (aPTT/TCA)

Timpul de tromboplastină parţial activată (aPTT) reprezintă timpul de coagulare a unei plasme deplachetate recalcifiate în prezenţa cefalinei (ca substitut al fosfolipidelor din membrana plachetară) şi a unui activator al fazei de contact (de exemplu kaolin). Este un test destinat explorării căii intrinseci a coagulării, deci explorării factorilor complexului de contact (XII, kininogen, prekalikreina), a factorilor VIII, IX, XI, X, V, II şi a fibrinogenului. Este sensibil la anomaliile care interferează cu generarea trombinei. Valoarea normală variază, în funcţie de reactivul utilizat, între 20 şi 40 secunde.

Valoarea obţinută pe plasma de la pacient se compară cu o valoare obţinută pe o plasmă martor (de la un individ normal). Alungirea aPTT este considerată patologică atunci când este de 1,2 ori valoarea martor. Alungirea izolată a aPTT sugerează următoarele variante etiologice :

➢ tratamentul cu heparine nefracţionate sau prezenţa accidentală de heparină în prelevatul sanguin de testat. Astfel, aPTT este utilizat ca test de supraveghere a terapiei cu heparine nefracţionate. Trebuie reamintit faptul că heparinele cu greutate moleculară mică (fracţionate) nu alungesc aPTT decât în mod nesemnificativ la dozele terapeutice, astfel încât aPTT nu poate fi utilizat ca test de supraveghere.

➢ deficit constituţional al unuia sau al mai multor factori implicaţi în calea intrinsecă :
  - deficit în factor VIII : hemofilia A
  - deficit în factor IX : hemofilia B
  - deficit în factor XI : boala Rosenthal
  - deficit în factor XII (Hageman)
  - deficit în kalikreină sau kininogen cu greutate moleculară mare

➢ pezenţa unui anticoagulant circulant
  - anticorpi cu specificitate pentru unul din factori (anti-VIII:C, anti-IX, anti-XI, anti-V)
  - anticorpi ce interferează cu o fază a coagulării : antiprotrombinaza sau anticoagulantul lupic sau antifosfolipidic, inhibitor al fibrinoformării, inhibitor al fazei de contact.

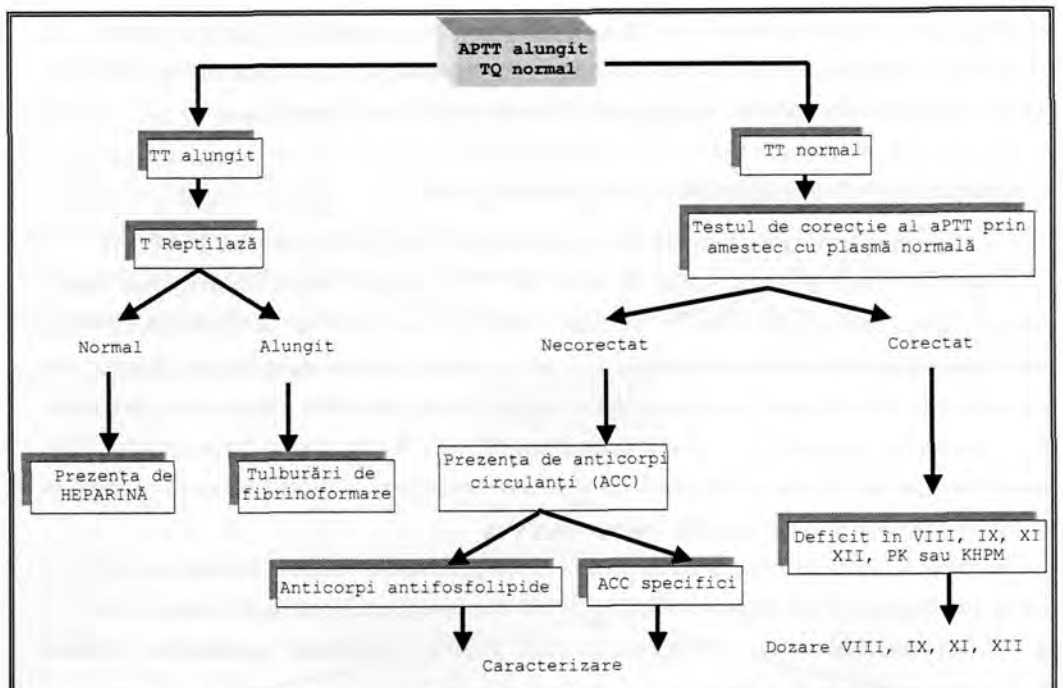


Figura 6 – Demers diagnostic în caz de alungire izolată aPTT

Pentru a preciza cauza alungirii aPTT, se asociază şi alte investigaţii precum : timpul de trombină (TT), timpul de reptilază (TR), aPTT pe un amestec în părţi egale dintre plasma de la pacient şi plasma normală. Bilanţul poate conduce la următoarele situaţii :

⇨ aPTT alungit + TT alungit + TR alungit → tulburări de fibrino-formare (prezenţa de antitrombină, anomalii ale fibrinogenului) – aceste anomalii asociază, de obicei, şi alungirea TP ;

⇨ aPTT alungit + TT alungit + TR normal → prezenţa de heparină ;

⇨ aPTT alungit + TT normal → prezenţa unui anticoagulant circulant sau prezenţa unui deficit izolat al unui factor al coagulării (VIII, IX, XI, XII) → pentru diferenţiere, se realizează în paralel aPTT pe plasma pacientului, pe o plasmă normală şi pe un amestec în părţi egale a celor două plasme :

• aPTT pe amestec nu se corectează→există un anticoagulant circulant → se continuă testele pentru caracterizare;→există un anticoagulant circulat (ACC)

⇨ ACC dirijat contra unui factor specific al căii intrinseci (VIII, IX, XI sau XII). Riscul hemoragic este prezent în caz de anti-VIII, anti-IX şi anti-XI.

• un autoanticorp anti-VIII poate apărea în diferite contexte (cu excepţia imunizărilor la pacienţii cu Hemofilie A :

  - vârstnici
  - patologie auto-imună (lupus, poliartrită reumatoidă, sdr Goujerot-Sjögren…).
  - hemopatii maligne : LLC, Waldenström, mielom

  - cancere solide (predominant adenocarcinoame) : plămân, colon, rinichi, prostată, ovar
  - post-partum

• antoanticorpii anti-IX sunt mai rari, cei anti-XI sunt excepţionali.

⇨ ACC de tip antiprotrombinază (sau de tip lupic). Este vorba de un anticorp dirijat contra fosfolipidelor din complexul protrombinazic ce expune la un risc trombotic.

• aPTT pe amestec se corectează → există un deficit izolat pe unul din factorii căii intrinseci → trebuie dozaţi aceşti factori;

• deficitul în FVIII coagulant definind hemofilia A, deficit în FIX definind hemofilia B, deficit în factorul Willebrand sunt deficitele cele mai frecvente şi cele mai grave cu risc hemoragic major

• deficitul în FXI este un deficit rar, cu transmitere autozomală dominantă, cu un risc hemoragic rar spontan

• deficitele în FXII, în PK şi în KHPM (faza de contact) nu expun la nici un risc hemoragic.

4. Alungirea concomitentă a TP şi aPTT

Alungirea concomitentă a celor doi timpi se poate datora fie unei anomalii unice (adesea congenitale) la nivelul căii comune, finale, sau unor anomalii multiple (adesea dobândite) la nivelul ambelor căi, intrinsecă şi extrinsecă. Bilanţul trebuie completat cu un timp de trombină şi dozarea fibrinogenului.

a) Nivelul de fibrinogen normal (dozaj funcţional)

⇨ ***TT alungit*** :

- prezenţa unei anti-trombine de tipul :
  - heparină
  - hirudină
  - anticorpi anti-trombină (rar)
- disfibrinogenemie dacă dozarea fibrinogenului este de tip antigenic şi nu funcţional

⇨ ***TT normal*** :

- *hipovitaminoza K* :
  - diagnosticul se bazează pe diminuarea factorilor a căror sinteză depinde de vitamina K : II, VII, IX si X. FV este normal deoarece este independent de vitamina K
  - riscul hemoragic este important
  - etiologiile la adult sunt legate de malabsorbţia vitaminei K :

▲ prin retenţie în cadrul unui icter colestatic sau prin chelarea sărurilor biliare (tratament cu colestiramina, parafină...).

▲ prin sdr de malabsorbţie de tip boală celiacă, rezecţie intestinală întinsă

▲ prin carenţa de aport de vitamina K în cadrul malnutriţiei sau prin alimentaţie parenterală prelungită fără supliment de vitamina K (pacient aflat în reanimare).

▲ prin defect de sinteza vitaminei K de către flora intestinală distrusă prin antibioterapie

- tratamentul la adult se bazează pe :

▲ o injecţie iv lentă cu 20 mg de vitamina K

▲ o transfuzie de concentrat de factori dependenţi de vitamina K (PPSB) sau de plasmă proaspată congelată în caz de sdr hemoragic grav

▲ tratamentul preventiv prin aport de vitamina K la pacienţii cu risc

- *insuficienţa hepatocelulară* :
  - diagnosticul se bazează pe diminuarea FV asociată cu scăderea FII, VII, IX şi X
  - riscul hemoragic este important
  - o diminuare a fibrinogenului este posibilă în insuficienţa hepatică severă
- *deficitul unui singur factor al coagulării* : un factor al căii comune :
  - deficite congenitale în FII, V sau X (risc hemoragic important)
  - deficite dobândite în FX în cadrul unei amiloidoze (FX capturat de substanţa amiloidă)
  - autoanticorpi anti-II, anti-V sau anti-X
- *anticorpii anti-protrombinază* :
  - niveluri crescute de Ac pot alungi în mod excepţional TQ. TCA este atunci foarte alungit.
  - riscul este trombotic.

b) Nivelul de fibrinogen anormal

– trebuie dozaţi ceilalţi factori : II, V, VII şi X

⇨ nivel izolat scăzut al fibrinogenului :

- afibrinogenemie sau hipofibrinogenemie constituţională :
  - formă homozigotă şi heterozigotă a unei patologii autozomale dominante
  - sdr hemoragic este grav în afibrinogenemie şi discret în hipofibrinogenemie
- disfibrinogenemie :
  - dozare fibrinogen funcţional mai scăzută decât cel imunologic
  - riscul hemoragic este slab
- hiperfibrinogenemie :
  - în cadrul unui sdr inflamator
  - alungeşte TCA şi TQ fără să se însoţească de un sdr hemoragic
- tratamente trombolitice :
  - streptokinaza (Streptase®), Urokinaza (Urokinase®), activatorul tisular al plasminogenului (alteplase, Actilyse®)

⇨ scăderea nivelului fibrinogenului şi a unuia sau a mai multor factori :

- insuficienţă hepatocelulară severă :
  - se însoţeşte de o scădere a FII, V, VII şi X
  - este posibilă o coagulopatie de consum asociată

- o coagulare intravasculară diseminată :
  - diagnosticul se bazează pe asocierea unei trombocitopenii, pe diminuarea fibrinogenului şi a factorului V, cu apariţia de PDF, D-dimeri şi complexe solubile.

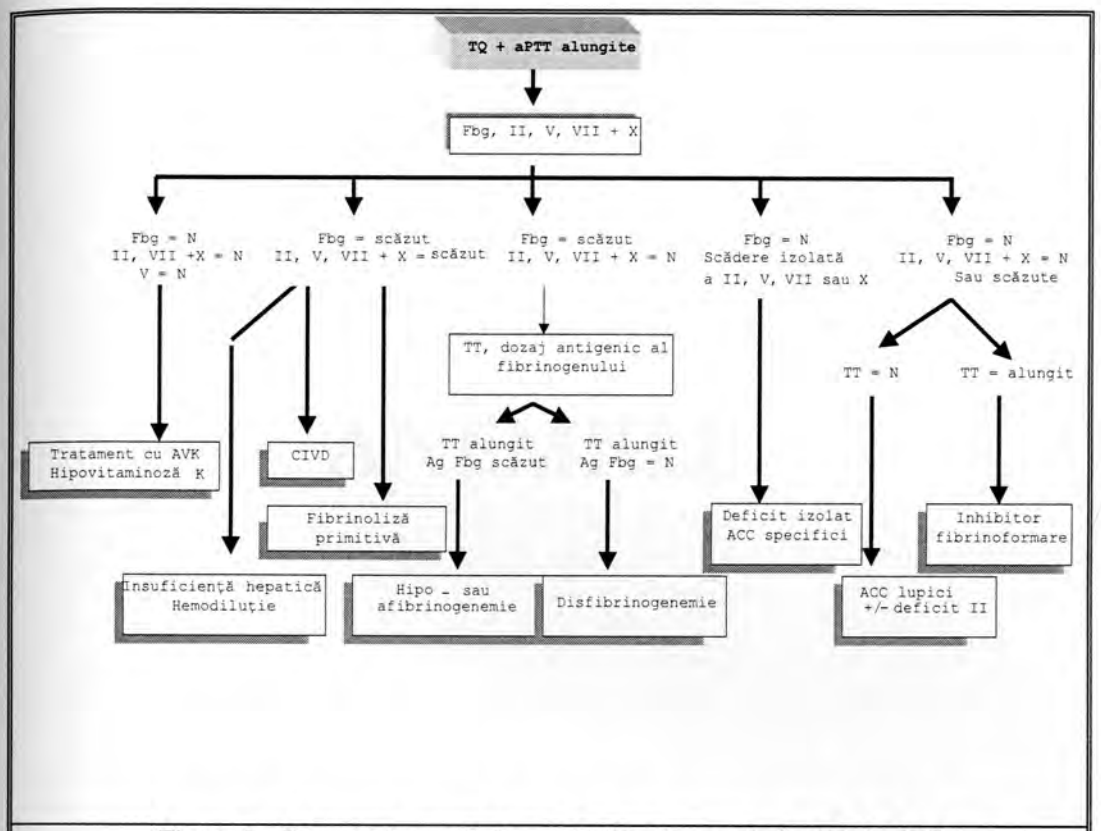


Figura 7 – Demers diagnostic în caz de alungire asociată a TP şi aPTT

- fibrinoliză primitivă :
  - diagnosticul se bazează pe asocierea unei scăderi a fibrinogenului, pe creşterea PDF, diminuarea timpului de liză a euglobulinelor. În formele izolate (rare), numărul de trombocite şi dozarea antitrombinei sunt normale, D-dimerii şi complexele solubile sunt absenţi.

Există cazuri în care un prim bilanţ al hemostazei ramâne în limite normale, chiar dacă pacientul are antecedente hemoragice. Dar trebuie ştiut faptul că există forme moderate de boală Willebrand care sunt diagnosticate dificil datorită sensibilităţii insuficiente a TS şi aPTT. Unele patologii constituţionale, rare, ale hemostazei (deficite în XII, anomalii ale fibrinolizei) nu perturbă bilanţul orientativ al hemostazei.

Atunci când nu a fost evidenţiată nici o anomalie în cadrul bilanţului, trebuie evocată o patologie vasculară - aceasta rămâne ca diagnostic de excludere.

ANEMIILE

ANEMIILE

DEFINIŢIE

Anemiile reprezintă grupul de afecţiuni hematologice cele mai frecvent întâlnit. Anemiile sunt afecţiuni caracterizate prin scăderea hemoglobinei circulante totale. În practică, conform criteriilor OMS, anemia este definită ca scădere a hematocritului sub 39% şi a hemoglobinei sub 13g/dl la bărbaţi, şi sub 36% şi, respectiv, sub 12g/dl la femei.

DIAGNOSTIC POZITIV

In procesul diagnostic al unei anemii, după ce a fost eliminată o falsă anemie prin hemodiluţie, se procedează la realizarea bilanţului răsunetului acestei scăderi a hemoglobinei asupra organismului, al toleranţei faţă de anemie şi respectiv, explorarea etiopatogenică a anemiei.

1. Semne clinice

Simptomele şi semnele clinice din anemii, indiferent de cauză, traduc hipoxia tisulară sau sunt secundare mecanismelor adaptative ale organismului, în special celui cardio-vascular, la noul regim de oxigenare. Putem distinge, în mod schematic, două tipuri de tablouri clinice:

a) Anemia acută

– cu instalare brutală, este rău tolerată;

– tabloul este grav, asociind semne de anemie şi de hipovolemie : astenie, paloare, dispnee, transpiraţii, sete intensă (în caz de hemoragie acută), tahicardie, hipotensiune arterială ; se poate instala şi o stare de şoc cardio-circulator (tegumente marmorate, răcirea extremităţilor, tulburări ale stării de conştienţă).

b)Anemie subacută sau cronică

– Toleranţa este variabilă şi depinde de :

- intensitatea anemiei - riscul de toleranţă mediocră creşte odată cu scăderea nivelului Hb sub 8 g/dl;
- rapiditatea instalării anemiei - anemiile care se instalează foarte lent şi progresiv sunt mai bine tolerate;
- terenul pe care survine anemia : vârsta pacientului, starea aparatului cardiovascular (anemia poate decompensa o insuficienţă coronariană sau cardiacă), comorbidităţi.

c) Manifestările unei anemii sunt :

- paloarea tegumentelor, mucoaselor, palmelor şi patului unghial (şunturi circulatorii în aceste teritorii)
- palpitaţii, dispnee de efort şi/sau repaos
- claudicaţii intermitente, precipitarea crizelor de angor (la cei cu leziuni preexistente)
- astenie fizică şi psihică, fatigabilitate
- cefalee, vertij, acufene

➢ examenul clinic evidenţiază : paloare sclero-tegumentară, tahicardie, suflu sistolic funcţional, +/- zgomot de galop, edeme la membrele inferioare

2. Examene de laborator

1. Cifra Globulelor Roşii (GR) : 4,2-5,5 mil/mm^3
2. Hematocritul : 45-54%
3. Hemoglobina : 12-14 (f), 13-15 (b)
4. Concentraţia medie în Hb în eritrocit (CHEM)

   CHEM = Hb(g%) x 100/Ht = 32-34%

   - hipocromie = sub 32%
5. Volumul eritrocitar mediu (VEM)

   VEM = Ht(%) x 10/GR = 85-95 μ^3

   - microcitoză = sub 85 μ^3
   - macrocitoză = peste 95 μ^3
6. Hemoglobina eritrocitară medie (HEM)

   HEM = Hb(g%) x 10/GR(mil) = 30-32pg
7. Numărătoarea de reticulocite : normal sunt în jur de 50.000/mm3

   - anemii regenerative : Ret > 150.000/mm3
   - anemii hipo sau aregenerative : Ret < 100.000/mm3

***Tabel* 8**

ASPECTE MORFOLOGICE PARTICULARE ALE HEMATIILOR		
Tip eritrocitar	**Forma**	**Tip de anemie**
5. Hematii normale	Disc cu centru palid (biconcavitatea)	
Echinocite	Hematii crenellate	Boli renale
Sferocite	Hematii mici fără centru palid (sferice)	Sferocitoză ereditară, an. hemolitice, arsuri
Codocite	Hematii în ţintă	Hemoglobinopatii, talasemii post-splenectomie
Drepatocite	Hematii în seceră	Drepanocitoză
Stomatocite	Zona palidă centrală în formă de gură (stoma)	Stomatocitoză ereditară, ciroze, alcoholism
Dacriocite	Hematii în formă de lacrimă, pară sau paletă tenis	Osteomielofibroză cu metaplazie mieloidă splenică, tuberculoză, alte hematopoieze extramedulare talasemie-beta
Schizocite	Hematii în coif, triunghiulare, fragmente eritrocitare	anemii hemolitice mecanice : PTT/SHU/CIVD, arsuri severe
Acantocite	Hematii în pinten	An. hemolitice, ciroză alcoolică, deficit PK

8. Examenul frotiului din sângele periferic : permite observarea morfologiei hematiilor dând indicaţii utile pentru stabilirea diagnosticului. Pot fi evidenţiate, de la caz la caz, anizocitoză (hematii inegale), poichilocitoză (hematii cu formă variabilă), anizocromie (variaţii de intensitate a coloraţiei, deci a încărcării cu Hb), forme particulare (sferocite, eliptocite, stomatocite, schizocite, celule în ţintă, celule în lacrimă), care pot sugera diagnosticul (vezi ***Tabelul 8***).
9. Leucograma şi numărătoarea trombocitelor – este necesară pentru a verifica dacă anemia este doar un aspect al unei afecţiuni cu implicaţii hematologice mai largi.
10. Studiul măduvei osoase hematopoietice : citologie (mielogramă) şi histologie (biopsie osteo-medulară).

Pornind de la aceste investigaţii de bază, pentru stabilirea diagnosticului etiopatogenic complet se va proceda la investigaţii specializate, de la caz la caz (test Coombs, test Ham-Dacie, electroforeza hemoglobinei, studiul proteinelor membranare eritrocitate, etc… - vezi capitolele respective).

CLASIFICAREA ANEMIILOR

Scopul clasificărilor este de a conduce la etiologia şi/sau cel puţin la mecanismul de producere a anemiei, de unde va decurge atitudinea terapeutică. Există două metode comune de clasificare a anemiilor. Una are la bază aspectul morfologic al hematiilor (clasificarea morfologică), în timp ce cea de-a doua se bazează pe mecanismul de producere al anemiei (clasificarea fiziopatologică).

***Tabel* 9**

ANEMII NORMOCITARE NORMOCROME			
Reticulocite crescute	*Anemii hemolitice*	Corpusculare	Tulb. Membrană
			Deficit enzymatic
			Hemoglobinopatii
			*HPN
		Extracorpusculare	Imunologice
			Infecţioase
			Mecanice
			Toxice (fizice/chimice)
Reticulocite normale sau scăzute	*Măduvă hipo/acelulară*	Hipo/aplazie eritroblastică izolată Hipo/aplazie medulară (congenitală sau dobândită) Mielofibroză	
	Măduvă hipercelulară	Infiltrare medulară neoplazică (leucemică sau nonleucemică) Hipersplenism	
	Măduvă normocelulară	Hemoragii acute recente, hiperhidratare, insuficienţă cardiacă, renală, ciroză hepatică, sarcină	

* HPN = Hemoglobinurie paroxistică nocturnă

I. CLASIFICAREA MORFOLOGICĂ

Clasificarea morfologică se bazează pe parametrii eritrocitari : numărătoarea eritrocitată, dozarea hemoglobinei şi măsurarea hematocritului, cu ajutorul cărora se determină indicii eritrocitari de volum (VEM), de culoare (HEM, CHEM). La aceştia se adaugă numărul de reticulocite şi aspectul morfologic pe frotiul sanguin. Coroborarea acestor date a permis încadrarea anemiilor în trei mari categorii.

Tabel **10**

ANEMII MICRORMOCITARE HIPOCROME		*Fier*	*Feritină*	*Transferină*
Deficit marţial	Anemii feriprive	⇩	⇩	⇧
Deficit utilizare fier	Anemii sideroblastice	⇨/⇧	⇧	⇨/⇩
Blocaj al fierului	Anemii inflamatorii cornice	⇩	⇧	⇩
Deficit de sinteză a globinei	Talasemii Hemoglobinopatii (EE, CC) Unele porfirii	⇨/⇧	⇧	⇨/⇩

Tabel **11**

ANEMII MACROCITARE NORMOCROME		
Anemii megaloblastice	**Deficit în B12 sau acid folic**	
	Anomalii ereditare de sinteză ADN (sdr Lesch-Nyan)	
	Deficit tranzitor iatrogen în sinteza ADN (antifolice, analogi purinici, analogi pirimidinici)	
	Eritroleucemie	
	Sindroame mielodisplazice	
	Anemii sensibile la tiamină	
Anemii non-megaloblastice	*Reticulocite crescute*	**Anemii hemolitice cu regenerare**
		Anemii hemoragice acute – faza de recuperare
	Reticulocite normale	Alcoolism Chimioterapie Sdr mielodisplazice Mixedem Hepatopatii cronice Artefacte - aglutinine la rece

Tabel **12**

CLASIFICAREA FIZIOPATOLOGICĂ A ANEMIILOR

I. Anemiile centrale

A. Anemii prin aneritropoieză sau hipoplazie
1. Eritroblastoze pure
2. Aplazii medulare globale
- idiopatice
- infecţioase (virale, tbc)
- toxice (industriale, medicamentoase, radiaţii ionizante)
- invadare medulară (hemopatii maligne, metastaze)
- fibroză medulară

B. Anemii prin diseritropoieză sau displazie
1. Deficit de sinteză a ADN (carenţă în vitamina B12, acid folic, deficit în mecanismul purinelor şi pirimidinelor)
2. Deficit în sinteza hemoglobinei
- deficit în fier
- deficit în utilizarea fierului

C. Anemii prin mecanisme multiple
1. Anemia diseritropoietică congenitală
2. Anemii prin deficienţe nutriţionale
3. Anemii inflamatorii

II. Anemii periferice

A. Anemii posthemoragice acute

B. Anemii hemolitice

1. Corpusculare
- anomalii de membrană : sferocitoză, eliptocitoză, acantocitoză...
- anomalii enzimatice : în şuntul pentozelor (G6PD), ciclul Embden-Meyerhof (piruvatkinază, hexokinază), metabolismul nucleotidelor
- anomalii ale hemoglobinei
- tulburări în sinteza lanţurilor de globină (talasemiile)
- hemoglobinopatii constituţionale substituţionale (HbC, HbS, HbD...)
- alte hemoglobinopatii
- hemoglobinuria paroxistică nocturnă
- diseritropoieze

2. Extracorpusculare
- imunologice
  - an hemolitice autoimune
  - an imunoalergice medicamentoase
  - transfuzii incompatibile
  - an hemolitice ale nou-născutului
- mecanice
  - microangiopatii
  - HTA malignă, eclampsii, cancere metastatice
  - septicemii cu CIVD
  - proteze valvulare mecanice
  - de marş
- hipersplenism
- infecţioase
  - paludism
  - clostridium welchii, meningococ
  - venin de albină
- toxice
  - agenţi oxidanţi, sulfamide
  - fenacetină, nitrofurantoin
  - metale grele

III. Anemii mixte
- saturnism cronic
- insuficienţă renală cronică
- ciroză hepatică
- malabsorbţii digestive

a. Anemii normocrome normocitare

- cu VEM = 80-100 fl şi CHEM = 32-36%
- numărul de reticulocite poate fi variabil : scăzut, normal sau crescut
- cauzele principale : insuficienţa de producţie prin afectare medulară globală, hemoliza, pierderile în context hemoragic acut.

b. Anemii microcitare, hipocrome

- cu VEM sub 80 fl şi CHEM sub 32%
- numărul de reticulocite este scăzut datorită implicării medulare
- cauzele principale sunt : deficitul marţial, deficitul în sinteza hem-ului sau a globinei, cu alterarea sintezei hemoglobinei.

c. Anomalii macrocitare/megalocitare, normocrome

- cu VEM peste 100 fl şi CHEM peste 32%
- cauze principale : deficitul în B12, folaţi, anemiile hemolitice cu reticulocitoză mare, sdr mielodisplazice.

II. CLASIFICAREA FIZIOPATOLOGICĂ

Clasificarea fiziopatologică are la bază mecanismul de producere a anemiei. Ea face deosebire între anemiile prin deficit de producţie (cantitativ sau calitativ) şi anemiile prin distrugere (hemoliză) sau exces de pierderi (hemoragiile acute). În general, în primul grup, factorii etiologici acţionează la nivel central (medular), în timp ce, în al doilea, aceştia acţionează în periferie (sectorul circulant), cu unele excepţii în care cauza princeps este la nivel central (anemiile hemolitice prin defect corpuscular în care defectul este genetic şi afectează eritropoieza cu formarea unor eritrocite deficiente calitativ şi sensibile la agresiunile din circulaţie).

ANEMIILE MACROCITARE/MEGALOBLASTICE

GENERALITĂŢI

Macrocitoza reprezintă creşterea taliei medii a eritrocitelor. Poate fi pusă în evidenţă în două moduri :

→ direct, la examenul microscopic al frotiului de sânge periferic;

→ indirect, prin calcularea indicilor eritocitari, respectiv a volumului eritrocitar mediu (VEM). Astfel, macrocitoza corespunde unei creşteri a VEM de peste 100 μ^3 (fl).

În prezent, în marea majoritate a cazurilor, hemograma este realizată de către automate care pot măsura indicii eritrocitari. Cu toată precizia lor, pot apărea totuşi erori de măsurare evidenţiind o falsă macrocitoză. În consecinţă, în toate cazurile când se obţine un VEM crescut, se impune verificarea pe lamă.

Prezenţa unei macrocitoze reale reprezintă, adesea, un semn de diseritropoieză - insuficienţă medulară calitativă. Cel mai adesea, se datorează unei anomalii survenite în

sinteza ADN cu un asincronism de maturaţie nucleo-citoplasmatic, în defavoarea nucleului. Rezultă o reducere a numărului de diviziuni celulare de la proeritroblast către celula matură, cu intensificarea creşterii celulare în perioada între diviziuni, rezultând o creştere a volumului celular – macrocitoza.

Cauzele anemiilor macrocitare sunt dominate de carenţele vitaminice – vitamina B12 şi acidul folic (95%) - şi de mielodisplazii. Printre cauzele cele mai frecvente ale macrocitozei moderate (adesea fără anemie), se numără alcoolismul.

Carenţa în vitamina B12 şi acid folic provoacă un dezechilibru între o sinteză normală a ARN şi o sinteză defectuoasă a ADN, ceea ce conduce la un asincronism de maturaţie nucleo-citoplasmatică cu gigantism celular şi întârziere în diviziunea celulară. Celulele rezultate au dimensiuni superioare normalului, prezintă diviziuni anormale şi sunt displazice cu fragilitate crescută şi moarte prematură (hemoliză intramedulară).

Aceste anomalii privesc ţesuturile cu rată de reînnoire rapidă : măduva (predominant pe linia eritrocitară, dar şi celelalte linii sunt atinse), linia germinală, mucoasa digestivă.

FIZIOLOGIE

Vitamina B12

- Vitamina B12 desemnează diferite cobalamine care sunt molecule cu structura porfirinică.
- Cobalaminele nu sunt niciodată libere, doar legate de proteine, când se găsesc fie în diferitele alimente, fie de-a lungul tuturor etapelor metabolismului, absorbţiei, transportului sau utilizării intracelulare. Principalele proteine care leagă cobalaminele sunt : factorul intrinsec, transcobalaminele I et III (haptocorinele), transcobalamina II. În celule, cobalaminele se leagă de enzime specifice ca metionin sintetaza şi metilmalonil Co-A mutaza.
- Vitamina B12 se găseşte, de obicei, în bacterii şi în ţesuturile animale. Nu se găseşte în cereale, legume sau fructe.
- Vitamina alimentară ingerată este eliberată la nivel gastric, unde este fixată pe proteina R. La nivel duodenal, este preluată de Factorul intrinsec (FI), o glicoproteină sintetizată de celulele parietale fundice. FI a fost localizat şi la nivelul glandelor salivare, al celulelor G gastrice, al celulelor endoteliale. Fiecare moleculă de FI leagă două molecule de cobalamină, permiţând transportul până în ileonul terminal, unde se fixează pe un receptor specific de pe membrana celulară, etapă esenţială pentru absorbţia vitaminei.
- După fixarea complexului cobalamină-FI pe receptor, întregul ansamblu este internalizat rapid printr-un fenomen de endocitoză, urmat de o trecere în vezicule acide, care au un rol de a separa cele trei componente. Cobalaminele eliberate din complex sunt eliberate în circulaţie.
- Forma circulantă esenţială este metil-cobalamina. Ea este legată la o proteină transportoare – Transobalamina II (TCII) – sintetizată de celulele endoteliale, hepatocite, macrofage, proteină care serveşte la preluarea vitaminei după absorbţie şi la transportul ei la nivel hepatic (principalul organ de depozit) sau alte ţesuturi.
- Coenzimele cobalaminei au două funcţii enzimatice majore : (a) conversia metilmalonil coenzima A (CoA) în succinil coenzima A, reacţie dependentă de coenzima deox-adenozil-

cobalamina şi enzima metilmalonil CoA mutaza, şi (b) sinteza metioninei dependente de metil-cobalamină. Metil-cobalamina este coenzima esenţială pentru metionin-sintetază ce permite metilarea homocisteinei în metionină şi astfel regenerarea THF (tetrahidrofolat) prin demetilarea 5-metil THF. THF este indispensabil în sinteza timidinei.

- Necesarul este de 1-2 µg/zi şi este asigurat prin aportul de proteine animale (ficat, lapte, ouă, peşte) de în medie 5-100 µg/zi.
- Rezervele organismului sunt de 2-5 g, suficiente pentru 3-5 ani.
- Coeficientul de saturaţie al TCII este de 12-37%.
- Capacitatea totală de fixare a TCII este de 1.300-3.100 pg.
- Concentraţia plasmatică a vitaminei este de 200 - 900 pg/ml.

Folaţii

- Acidul folic sau acidul pteroilglutamic are o structură de tip monoglutamat. În alimente, forma naturală de aport, acidul folic nu se găseşte sub formă de monoglutamat, ci sub formă poliglutamică.
- Acidul folic alimentar se găseşte, în special, în legumele verzi (spanac, fasole verzi, lăptuci, brocoli) şi în drojdie şi ficat. Gătitul distruge acidul folic nelegat de proteinele din legume, dar nu şi pe cel legat de proteinele din ficat, drojdie. Astfel, se preferă un aport nutritiv prin legume proaspete.
- Folaţii alimentari, sub formă de poliglutamaţi, sunt absorbiţi la nivelul jejunului proximal. În microvilii din mucoasa intestinului subţire, ei suferă un proces de deconjugare enzimatică la tri-, bi- şi monoglutamaţi, apoi sunt absorbiţi în enterocite. Aici, monoglutamat-folatul este redus şi metilat la 5-metil tetrahidrofolat (THF), care trece în sânge şi apoi în ficat (depozit) şi alte ţesuturi unde este demetilat pentru a deveni activ .
- Forma circulantă este 5-metil-THF. Ajunsă în celule, este convertită în THF, forma activă. Singurele forme biologic active de folat sunt formele reduse - tetrahidrofolat.
- Necesarul în folaţi este de 50-100 µg/zi.
- Aportul alimentar este în medie de 600-900 µg/zi.
- Rezervele organismului sunt de 10-20 mg, suficiente pentru 3-4 luni.
- Concentraţia plasmatică este de 2-10 µg/l.
- Concentraţia eritrocitară este de 200-800 µg/l.

Folaţii şi vitamina B12 joacă un rol important în reacţiile de sinteză a bazelor purinice necesare sintezei ADN.

FIZIOPATOLOGIE

- In ansamblu, deficitul în vitamina B12 şi folaţi antrenează o afectare a sintezei ADN în toate celulele cu reînnoire rapidă de tipul celulelor hematopoietice şi al celulelor din mucoasa tubului digestiv.
- Rezultă un asincronism de maturaţie nucleo-citoplasmatic – nucleul îşi păstrează aspectul tânăr, în timp ce sintezele citoplasmatice şi hemoglobinizarea decurg normal. Rezultă astfel o diseritropoieză megaloblastică. Rezultă o reducere a numărului de mitoze ducând la formarea

de celule cu volum mare (megalocitoza). Unele dintre ele sunt fragile, nu ajung la maturaţie şi se distrug în măduvă - hematopoieza ineficientă cu hemoliză intramedulară.

- Deficitul vitaminic afectează toate cele trei linii medulare, conducând la anomalii sugestive :

- *Sanguine* :
  - macrocitoză eritrocitară, anizocitoză, poikilocitoză, prezenţa de corpi Jolly, uneori inele Cabot
  - polimorfonucleare cu nucleul hipersegmentat
  - trombocite gigante
- *Medulare* :
  - eritroblaşti cu talie mare, cromatină fin granulară, eritroblaşti cu nucleu "tânăr" şi citoplasmă hemoglobinizată (asincronism de maturaţie), eritroblaşti distrofici, dismorfici, cu granulaţii bazofile şi cariorexis;
  - precursori ai liniei granulocitare cu talie mare (mielocite, metamielocite gigante);
  - dismegakariopoieză cu megakariocite cu numeroşi nuclei mici separaţi sau micromegakariocite cu nucleu unic, neînmugurit (prin blocarea endoreduplicării).

- Deficitul în vitamina B12 antreanează şi o neuropatie, uneori cu manifestări severe. Este vorba de o neuropatie prin degenerescenţa tecilor de mielină, urmată de ruperea axonilor în cordoanele dorsale şi laterale din măduva spinării (degenerescenţă subacută combinată a măduvei), demielinizarea focală în substanţa albă cerebrală şi de pierderea de mielină şi axoni în nervii periferici.

ETIOLOGIE

Etiologia deficitelor în vitamina B12

- ***Carenţă de aport*** - este excepţională (vegetarian strict, kwashiorkor).
- ***Malabsorbţie digestivă de origine gastrică prin deficit în FI*** :
  - gastrectomie totală, uneori parţială ;
  - gastrită atrofică non-specifică;
  - boală Biermer;
  - deficit congenital selectiv în FI.
- ***Malabsorbţie digestivă de origine intestinală*** :
  - rezecţie distală de intestin subţire;
  - enteropatii : boală Crohn, limfoame intestinale;
  - pululare microbiană în amonte de o stenoză sau într-o ansă oarbă;
  - botriocefal (parazit intestinal ce consumă B12);
  - malabsorbţie congenitală selectivă (boala Imerslund-Gräsbeck).
- ***Insuficienţe pancreatice exocrine***
- ***Medicamente putând inhiba absorbţia*** (rar) :
  - colchicina, neomicina, colestiramina, fenitoin
- ***Deficite congenitale afectând transportul şi utilizarea*** :
  - deficit în transcobalamina TC II

Etiologii ale deficitului în folaţi

- ***Carenţă de aport alimentar*** :

– în toate malnutriţiile (mai ales cea etilică) şi în cursul unor obişnuinţe alimentare (absenţa de legume verzi sau gătirea lor sistematică)

- ***Carenţă relativă prin creşterea necesităţilor*** :

– sarcini repetate la intervale scurte sau sarcini gemelare, prematuritate;

– anemii cronice hemolitice congenitale sau dobândite;

– creştere, cancere, dermatoze exfoliante;

– carenţă acută în folaţi (anemie şi trombocitopenie), observabilă în serviciile de reanimare : infecţii severe, insuficienţă renală, nutriţie parenterală, hemodializă.

- ***Malabsorbţie digestivă*** :

– rezecţie chirurgicală a intestinului subţire proximal. Alte atingeri : LMNH, sclerodermii;

– enteropatii : boala celiacă, boala Whipple;

– sprue tropical.

- ***Medicamente*** :

– antifolice (inhibiţia dihidrofolat reductazei) : metotrexat, trimetroprim, triamteren

– hidantoine, barbiturice, salazopirină, pirimetamină.

- ***Eilism cronic şi ciroză*** :

– mai multe mecanisme sunt implicate :

* malnutriţie;

* necesar crescut;

* anomalii de utilizare.

DIAGNOSTIC POZITIV

Semne clinice

- sindromul anemic se instalează treptat, devenind simptomatic la valori relativ scăzute ale hemoglobinei;
- sindromul anemic se manifestă prin : astenie, dispnee, palpitaţii, paloare de tip infiltrativ, ceros, asociind subicter (datorită hemolizei intramedulare) ;
- splenomegalie moderată ;
- glosită Hunter : arsuri linguale accentuate de alimentele calde şi picante, limbă lucioasă, depapilată, iniţial la vârf şi pe margini, ulterior generalizată ;
- dureri abdominale, tulburări dispeptice variate ;
- sterilitate la femei şi astenospermie la bărbaţi ;
- subfebrilitate ;
- sindromul neuroanemic :

• demielinizare la nivelul cordoanelor medulare posterioare şi laterale manifestate prin parestezii, dureri, tulburări la mers, pierderea sensibilităţii profunde (semnul diapazonului, semnul Romberg pozitiv);

• sindrom piramidal cu hiperreflectivitate tendinoasă, diminuare a forţei muscular;

• simptomele predomină la nivelul membrelor inferioare;

• este posibil ca semnele neurologice, atunci când sunt vechi, să nu cedeze complet după tratamentul substitutiv vitaminic ;

• semnele neurologice se pot agrava în cazul unei carenţe în vitamina B12 tratată doar cu acid folic;

• pot surveni tulburări psihice de tipul : iritabilitate, sindrom depresiv, demenţă ;

• semnele neurologice sau neuropsihice pot precede sindromul anemic, pacienţii trecând prin servicii de neurologie sau psihiatrie înainte de stabilirea diagnosticului corect.

Semne biologice şi hematologice

- ***Hemograma*** :

- GR scăzute (sub 2 x10^6/mm^3 pentru anemia Biermer)
- macrocitoză cu VGM > 110, CHEM peste 32%
- reticulocitele sunt normale sau uşor crescute în procentaj, dar în valoare absolută sunt sub 100.000/mm^3
- scădere moderată a GA (3.000/mm^3) şi a trombocitelor cu tendiţă la gigantism celular şi hipersegmentare a nucleilor granulocitelor. În unele cazuri, citopeniile pot fi severe, pretând la confuzie cu o aplazie medulară
- frotiul de sânge periferic : macrocitoză, anizocitoză, anizocromie, prezenţa de corpi Jolly şi inele Cabot, prezenţa de ovalocite, granulocite cu nucleu hipersegmentat, trombocite mari, gigante ;

- ***Mielograma*** :

- măduva este bogată, hipercelulară, albastră (bazofilie citoplasmatică crescută);
- eritroblastoză crescută (raportul între precursorii granulocitari şi eritrocitari putând fi inversat), asincronism de maturaţie nucleo-citoplasmatică cu nuclee cu aspect tânăr în celule cu citoplasmă matură, acidofilă ;
- seria granulocitară prezintă precursori gigantici, cu nucleul hipersegmentat ;
- megacariocite cu nucleu hipersegmentat.

- ***Anomaliile biologice*** :

- sideremie crescută, coeficient de saturaţie al siderofilinei crescut;
- bilirubina indirectă crescută (hemoliză intramedulară);
- LDH crescută.

- ***Dozajul vitaminic:***

o dozajul vitaminic în sânge trebuie realizat înainte de orice vitaminoterapie şi este indispensabil pentru a afirma diagnosticul de carenţă

o alte dozări permit de a scăpa de interferenţele între dozări :

– homocisteinemia este crescută în carenţa în folaţi şi în B12

– acidul metil-malonic (dozat mai rar) este crescut doar în deficitul de vitamina B12

DIAGNOSTIC ETIOLOGIC

Diagnosticul etiologic urmăreşte precizarea tipului de carenţă (cobalamina/folaţi) care a condus la apariţia anemiei şi modalitatea de instalare a deficitului respectiv.

- Anamneza va urmări câteva elemente care pot orienta diagnosticul :

- prezenţa în antecedentele personale a unei intervenţii chirurgicale soldate cu gastrectomie sau rezecţii ileale ;
- consum medicamentos de produse cu activitate antifolică;
- prezenţa de tulburări digestive sugerând un sindrom de malabsorbţie.

- Dozajul vitaminic

- trebuie cerut în mod sistematic înainte de începerea tratamentului
- dozajul vitaminei B12 serice foloseşte fie metoda biologică, fie, mai nou, metoda radioimunologică. Valorile normale sunt între 200 şi 600 pg/ml. Pacienţii cu deficit cobalaminic au la dozare valori sub 170 pg/ml.
- dozajul folaţilor serici (2-10 µg/l) şi eritrocitari (> 200 µg/l)
- nu trebuie uitat faptul că există reacţii fals pozitive (deficitul nu există, dar nivelul seric al vitaminei este scăzut) sau negative (deficitul există, dar nivelul seric al vitaminei este normal sau crescut) ce impun verificarea pentru confirmare.

- Testul terapeutic – se utilizează în condiţiile lipsei unor laboratoare specializate. Este fiabil doar în cazul utilizării de doze fiziologice, 1 µg/zi de vit B12 sau, respectiv, 100 µg/zi acid folic pe cale parenterală timp de 2-3 zile, permiţând apariţia crizei reticulocitare către ziua 6-a.

- Testul Schilling – test ce urmăreşte absorbţia vitaminei B12

- constă în măsurarea excreţiei urinare a unei doze de vitamina B12 radiomarcate, administrate per os, excreţie provocată de o doză de încărcare de B12 administrată parenteral
  - ➢ în mod normal, peste 10% din doza orală se elimină urinar
  - ➢ în caz de absenţă a FI, sub 5% din doza per os se elimină urinar. Doza excretată se corectează în caz de administrare de B12 şi FI
  - ➢ în caz de sindrom de malabsorbţie, administrarea simultană de FI nu corectează excreţia urinară
- testul rămâne pozitiv chiar şi sub tratament cu B12

- Testul la D-xiloză şi biochimia materiilor fecale (steatoreea din 24 ore) sunt utilizate în cazul sindroamelor de malabsorbţie.

- Fibroscopia gastrică, testele imunologice – utilizate în deficitul în vitamina B12.

FORME ETIOLOGICE

Deficit în vitamina B12

a. Anemia Biermer

- Reprezintă o anemie megaloblastică secundară reducerii dramatice a sintezei de FI datorită atrofiei celulelor gastrice secretorii. Aceasta apare în contextul unei boli gastrice autoimune, fapt susţinut de prezenţa de anticorpi anti-celule parietale, anticorpi anti-FI, aclorhidrie gastrică la tubaj şi prezenţa unei gastrite atrofice cu infiltrat limfo-plasmocitar la biopsie. Poate asocia şi alte fenomene autoimune, precum prezenţa de anticorpi anti-tiroidieni şi hipotiroidie.
- Boala survine la pacienţi de peste 40 ani, se remarcă o predominanţă feminină.
- Macrocitoza se instalează cu multe luni înainte de debutul clinic al anemiei.
- Odată instalat tabloul de anemie megaloblastică, se va căuta : o cărunţire precoce, vitiligo, un diabet, un sindrom neuro-anemic, alte manifestări autoimune (mixedem, tiroidită).
- Hematologic : tablou tipic de anemie megaloblastică (vezi mai sus)
- Biologic :
  - dozajul vitaminei B12 arată valori serice scăzute
  - testul Schilling permite evidenţierea tulburărilor da absorbţie a cobalaminei prin absenţa FI
- Investigaţii digestive :
  - endoscopia esogastrică evidenţiază un aspect de atrofie gastrică predominant fundică
  - tubajul gastric evidenţiază achilie gastrică necorectată de administrarea de pentagastrină
  - biopsia mucoasei gastrice arată o infiltrare limfo-plasmocitară a mucoasei
  - leziunile mucoasei constituie un context favorizant pentru dezvoltarea unui neoplasm, ceea ce impune o supraveghere activă prin fibroscopii repetate la cel puţin doi ani interval, pentru depistarea precoce a leziunilor neoplazice.
- Studiile imunologice
  - căutarea anticorpilor anti-FI prezenţi în aproximativ 65% din cazuri. Sunt anticorpi de tip blocant, mai rar de tip precipitant. Sunt puşi în evidenţă în ser, dar şi în lichidul gastric ;
  - vor fi căutaţi şi alţi anticorpi : anti-celulă parietală (nespecific), anti-tiroidieni, anti-nucleari.

b. Sindroame post-gastrectomie

- Anemia megaloblastică este o complicaţie rară la pacienţii gastrectomizaţi, mai ales la cei cu gastrectomie totală.
- Survine la aproximativ 10% dintre pacienţi, la aproximativ 5 ani de la intervenţie, timpul necesar epuizării rezervelor hepatice.
- Se impune la pacienţii gastrectomizaţi dozajul anual al cobalaminei serice şi administrarea parenterală lunară sau bilunară a 100 mcg de vitamina B12.

c. Sindroamele infecţioase intestinale

- *Infestarea cu Diphyllobotrium latum* - se produce prin ingestia de peşte crud infestat. Survine la 5% din populaţia din zona Mării Baltice şi a Marilor Lacuri. Parazitul consumă cobalamina alimentară la nivelul intestinului subţire. Diagnosticul se stabileşte prin evidenţierea ouălelor de parazit în materiile fecale. Rezolvarea se obţine prin tratamentul cu Quinacrină sau Niclosamid.
- *Sindromul de ansă oarbă* - apare ca urmare a intervenţilor chirurgicale (gastrectomie cu anastomoză duodeno-jejunală), a stricturilor sau diverticulelor care favorizează crearea unei anse intestinale cu evacuare încetinită şi incompletă, favorizând proliferarea microorganismelor (E-coli, bacili gram-negativi, paraziţi) care consumă cobalamina cuplată cu FI. Diagnosticul este sugerat de antecedentele digestive, în special cele chirurgicale, şi de faptul că, la testul Shilling, administrarea de cobalamină marcată cuplată cu FI nu determină ameliorarea absorbţiei. Tratamentul cu Tetraciclină poate ameliora situaţia, dar, în formele severe, se impune tratamentul parenteral cu cobalamină şi rezolvarea chirurgicală a ansei oarbe.

d. Sindroame de intestin subţire

- Există o serie de afecţiuni ale intestinului subţire care se pot asocia cu deficit de vitamină B12, asocierea fiind variabilă, dar impunând supraveghere şi prevenţie :

- rezecţia ileonului distal (locul predilect de absorbţie)
- ileite regionale (boala Crohn...)
- sprue tropical
- insuficienţă pancreatică exocrină cronică
- limfom ileal
- sclerodermie cu implicare intestinală

Deficit în acid folic

Este prezent în diverse contexte etiologice :

- aport insuficient : regim, sugari, sarcină, alcoolism
- nevoi crescute : alcoolism şi ciroză, sarcină, prematuritate copilărie, boli cu proliferare celulară rapidă, hematopoieză activă, neoplazii
- malabsorbţie congenitală
- tulburări de absorbţie : boală celiacă, sprue netropical, infecţii intestinale cronice
- defect de utilizare prin medicamente antagoniste : Metotrexat, Triamteren, Trimetoprim
- pierderi excesive : dializă, insuficienţă cardiacă
- deficite enzimatice congenitale : 5-metiltetrahidrofolat transferază

a. Alcoolismul – pare a reprezenta cauza cea mai frecventă pentru deficitul în folaţi, cu atât mai mult cu cât poate acţiona la diferite etape ale metabolismului folaţilor

- alcoolismul antrenează adesea, prin aportul energetic fără substrat nutriţional şi prin problemele sociale asociate, o reducere a aportului nutriţional general şi a celui folatic
- antrenează modificări la nivelul tubului digestiv cu afectarea absorbţiei folaţilor

- se produce un deficit în preluarea şi utilizarea intracelulară a folaţilor
- consumul de alcool antrenează, prin leziunile hepatice induse, o reducere a rezervelor de acid folic şi grăbirea instalării anemiei megaloblastice la aceşti bolnavi
- ingestia repetată şi de durată a alcoolului determină, pe lângă modificările megaloblastice tipice, şi prezenţa la nivel medular de sideroblaşti atipici, vacuolizarea celulelor mieloide

b. Tropical sprue – afecţiune care survine la pacienţii care au petrecut luni sau ani în zonele tropicale (Caraibe, Asia de Sud-Est)

- se manifestă clinic în mod variabil, de la forme asimptomatice şi până la forme cu tulburări de tranzit, steatoree şi anemie megaloblastică
- boala se corectează rapid sub ingestia de acid folic, cu dispariţia malabsorbţiei
- biochimia materiilor fecale arată steatoree
- dozajul folaţilor serici şi eritrocitari arată valori scăzute
- biopsia jejunală arată atrofia violasă totală sau subtotală
- prelungirea duratei bolii determină asocierea carenţei în cobalamină

c. Sprue netropical (boala celiacă)

- enteropatie cu malabsorbţie generalizată, indusă de ingestia de gluten sau peptide bogate în glutamină
- boala survine la copil sau adult
- manifestări : tulburări de tranzit cu steatoree, deficit în folaţi şi deficit în fier
- biopsia mucoasei intestinale arată atrofie violasă subtotală, reversibilă sub regim alimentar fără gluten
- testul cu D-xyloză este util pentru diagnostic – eliminare urină/ a mai puţin de 1,5 g xyloză în următoarele 5 ore de la ingestia unei doze de încărcare de 5 g este semn sugestiv pentru diagnostic
- tratamentul constă în regim fără gluten asociind administrarea de acid folic în doze de 1-5 mg/zi
- de remarcat, în forma adultului, o incidenţă crescută a limfomului non-Hodgkin.

d. Creşterea necesităţilor în raport cu aportul

- *Sarcina* – necesarul în folaţi în cel de-al treilea trimestru creşte de 5-10 ori, datorită direcţionării către fetus. Deficitul este mai important în sarcinile gemelare şi în cele repetate la interval scurt, care nu permit refacerea rezervelor. Se impune tratamentul preventiv cu acid folic şi fier în timpul sarcinii.
- *Necesar hematopoietic crescut* – este cazul anemiilor hemolitice congenitale sau dobândite, în care compensarea pierderilor impune consumul crescut al folaţilor. Se recomandă aportul cotidian a 1mg acid folic.
- *Dermatitele exfoliative* antrenează pierderi până la 25 – 33% din aportul nutriţional cotidian. Un exemplu tipic este psoriazisul.
- *Neoplaziile* – carcinoamele metastazate, leucemiile acute consumă preferenţial folaţii în detrimental eritropoiezei.

DIAGNOSTIC DIFERENŢIAL

Impune diferenţierea de alte situaţii care antrenează macrocitoză şi de alte anemii megaloblastice necarenţiale şi care nu răspund la tratamentul substitutiv vitaminic.

Macrocitoză prin creşterea suprafaţei membranei celulare

- Boli hepatice (VEM > 100 fl)
- Status-ul postsplenectomie

Hiper-reticulocitoză - (VEM > 115 fl)

- Anemii hemolitice
- Anemii posthemoragice

Alcoolismul – cea mai frecventă cauză de macrocitoză, adesea fără anemie asociată

- survine la aproximativ 90% dintre alcoolici/ în timp antrenează deficit de folaţi cu anemie megaloblastică adevărată

Tulburări ale sintezei ADN

- congenitale (aciduria orotică, sdr Lesch-Nyhan, anemia diseritropoietică, anemia cu deficit de tiamină)
- dobândite : droguri citostatice (hidroxiuree, aracitina, mercaptopurina, 5-azacitidina, 5-fluorouracil)

Alte boli hematologice

- sindroame mielodisplazice (vezi capitolul)
- anemia aplastică
- aplazia eritrocitară pură
- leucemiile
- sdr mieloproliferative(VEM > 100 fl)

Alte afecţiuni

- hipotiroidism

TRATAMENT

Deficitul în vitamina B12

- Preparatele utilizate sunt : cian- si hidroxicobalamina.
- Ciancobalamina se administrează în doze de 100µg pe zi până la normalizarea cifrei Hb şi GR, apoi de două ori pe săptămână timp de 4 săptămâni, apoi o doză lunară toată viaţa.
- Hidroxicobalamina : 1.000 µg la două zile timp de o lună, apoi lunar toată viaţa.
- Tratamentul va antrena ➔dispariţia megaloblastozei în 48 de ore cu criza reticulocitară către a 6-a zi şi dispariţia anemiei în 4-5 săptămâni (probă terapeutică).
- În cazul în care dozarea vitaminelor nu s-a realizat, se preferă şi asocierea de Acid folic 100 mg/zi, până la obţinerea rezultatelor.
- Sub tratamentul vitaminic, poate apărea o carenţă marţială, în special după prima lună de tratament ➔ este atunci necesară asocierea tratamentului cu preparate de fier după o lună de tratament cu B12.

- În primele zile de tratament, datorită creşterii producţiei celulare în cadrul eritropoiezei, se poate produce o hipopotasemie, uneori severă, cu risc morbid şi letal, ceea ce impune determinarea ionogramei şi asocierea la tratamentul vitaminic şi a clorurei de potasiu.
- Tratamentul transfuzional impune nuanţare. Anemia megaloblastică este o anemie cronică cu instalare progresivă, permiţând organismului să se adapteze la valori scăzute. Totuşi, boala poate surveni la vârstnici, cu capacităţi funcţionale organice reduse, la care anemii cu Hb sub 6 g pot precipita crize anginoase sau decompensări cardiace. În acest context, se impune transfuzia de masă eritrocitară, dar cu asocierea de diuretice pentru evitarea supraîncărcării volumice.
- După redresarea hematologică se recomandă supraveghere anuală a NFP şi gastrică la 2-3 ani.

Acid folic

- Preparate : acid folic şi acid folinic
- Se impune a se asigura că este manifestă absenţa unei carenţe în B12 înainte de începerea tratamentului.
- În carenţele de aport, se va utiliza acidul folic în doze de **5-10 mg/zi.**
- În malabsorbţii, ciroză, tratament cu medicamente antifolice (ex Metotrexat), se va prefera acidul folinic în doze **2,5-5 mg/zi**. În cazul tratamentului cu antifolice în doze mari, se recomandă acid folinic (preparat – folinat de calciu) în doze de 10-15 mg/m^2 la fiecare 6 ore timp de 49-72 ore. Există preparate orale şi parenterale.
- O suplimentare în acid folic se recomandă în :
  - ultimul trimestru de sarcină
  - anemiile hemolitice cronice
  - ciroze.

ANEMIILE HIPOCROME

Anemiile hipocrome se caracterizează prin prezenţa în sângele periferic de hematii hipocrome cu HEM sub 27 pg şi adesea microcitare, cu un VEM < 80 μ^3. Ele se datorează unui deficit în hemoglobinizarea hematiilor, secundară unei tulburări în sinteza hemoglobinei.

Cauzele care pot determina apariţia hipocromiei :

- deficitul în fier ;
- blocarea fierului în macrofage - bolile inflamatorii cronice ;
- tulburări în utilizarea fierului - anemii sideroblastice ;
- tulburări în sinteza porfirinelor - porfirii ;
- tulburări în sinteza globinei - talasemii ;
- intoxicaţia cu plumb .

ANEMIA PRIN CARENŢĂ MARŢIALĂ

INTRODUCERE

Deficitul în fier reprezintă cauza cea mai frecventă de anemie pe glob, după cum anemia rezultantă reprezintă una dintre cele mai frecvente boli umane şi cea mai frecventă afecţiune hematologică. Afectează aproximativ 30% din populaţia globului.

Carenţa marţială determină o insuficienţă în sinteza de hemoglobină cu creşterea numărului de diviziuni celulare a celulelor precursoare (eritroblaştii), conducând la microcitoză (prin suplimentarea numărului de diviziuni) şi hipocromie (prin insuficienţa încărcării cu hemoglobină).

METABOLISMUL FIERULUI

În organismul uman, cantitatea totală de fier este de 4 grame. Acesta este repartizat în următoarele compartimente :

- ***Hemoglobina*** – reprezintă cel mai mare compartiment, înglobând aproximativ 65% (2.500 – 3.000mg) din întreaga cantitate. Drept consecinţă, anemia va fi semnul principal al deficitului în fier.
- ***Fierul de depozit*** - cuprinde 30% (1.000 mg) din totalul de fier. Cantitatea din depozit este variabilă la femeile în perioada genitală activă. Acest fier se află în hepatocite (ficatul captează fierul alimentar care depăşeşte capacitatea de legare a proteinei transportoare) şi în macrofagele din sistemul reticuloendotelial (ingeră hematiile îmbătrânite şi catabolizează hemoglobina, recuperând fierul pentru reutilizare). Se prezintă sub două forme:

  Feritina – hidrosolubilă şi rapid mobilizabilă

  Hemosiderina – insolubilă şi lent mobilizabilă.
- ***Mioglobina*** – reprezintă aproximativ 4% din fierul total. Se află în muşchiul cardiac şi cel scheletal.
- ***Fierul din alte ţesuturi*** – este reprezentat de fierul legat de diferite enzime şi citocromi. Reprezintă 0,2%. Pierderea fierului antrenează alterarea funcţiei acestor enzime, unele manifeste clinic.
- ***Fierul de transport*** – fierul prezent în plasmă, legat de transferină.

Aportul cotidian de fier este, în medie, de 10 mg/zi (carne, peşte, fructe uscate, cereale).

Necesarul cotidian şi cantitatea absorbită este de 1-2 mg/zi. La femeie, în perioada de menstruaţie, necesarul cotidian creşte cu aproape 1 mg, pentru ca, în ultimul trimestru de sarcină, să ajungă la 3 mg/zi.

Cea mai mare parte din fierul alimentar este absorbită la nivelul duodenului şi jejunului proximal. Aciditatea sucului gastric ajută la disocierea fierului alimentar şi favorizează reducerea fierului feric în forma sa feroasă (cu ajutorul unei enzime – feroreductaza). Un transportor favorizează, printr-un proces activ, trecerea fierului redus prin membrana apicală a enterocitelor în citoplasmă. Intracitoplasmatic, fierul fie este depozitat ca feritină, fie este transferat prin membrana bazolaterală în plasmă.

Fierul trecut în plasmă este fixat pe o proteină transportoare – ***transferina (siderofilina)***. Aceasta este o proteină de 80.000 daltoni. Fiecare moleculă poate lega doi atomi de fier trivalent. Este sintetizată în enterocite. Transferina serveşte şi la transportul fierului rezultat din catabolismul hemoglobinei din eritrocitele îmbătrânite captate în sistemul reticuloendotelial.

In procesul de eritropoiezã cotidianã (pentru înlocuirea celulelor senescente), sunt necesare 25 mg fier - 20 mg provin din catabolism şi restul din absorbţie.

Pierderile fiziologice sunt de 1 mg/zi la bărbat, din care 0,7 mg/zi pierderi digestive, 0,2 mg/zi pierderi cutanate şi 0,1 mg/zi pierderi renale. La femeie, pierderile se suplimentează cu 35 mg/ciclu, 700 mg/sarcină, 2 mg/zi la alăptare.

ETIOLOGIE

In ansamblu, necesarul în fier nu este mare, acesta fiind acoperit atât de aportul alimentar, cât şi de recuperarea fierului din catabolismul hemoglobinei. Astfel, carenţa marţială se datorează scăderii aportului şi (în special) pierderilor excesive prin hemoragii.

Carenţa marţială apare în momentul în care aportul de fier alimentar nu compensează pierderile. Scăderea aportului sau a absorbţiei izolate este rară la adult şi mai frecventă la copil. Cauza principală o reprezintă pierderile, în special cea digestivă.

a. Carenţe de aport

- mai frecvente la copil şi rare la adult
- la copil : prematuritate, gemelaritate, dietă lactată prelungită
- la adult : - femeia însărcinată, în al doilea trimestru de sarcină
  - vârstnici
  - persoane lipsite de resurse alimentare

b. Tulburări de absorbţie

- gastrectomie
- geofagie
- malabsorbţie intestinală - rezecţie intestinală, boala Whipple, boala Chron, boala celiacă, fistule intestinale
- tratament cu medicamente antiacide, antisecretorii, sau pH excesiv de mare al acidului gastric
- exces alimentar de tanin, amidon, fitaţi
- competiţia cu alte metale alimentare – cupru, plumb
- pierderea sau disfuncţia enterocitelor absorbante

c. Pierderi sanguine repetate

- reprezintă cauza cea mai frecventă la adult

1. Pierderi digestive – constituie principala cauză de carenţă marţială la bărbat şi femeia în post-menopauză

- esofagul : varice esofagiene, esofagită de reflux, hernie hiatală (sângerare la nivelul hiatului herniar)

- stomacul : varice, ulcer peptic, gastrite, carcinom, angiodisplazie (mai frecventă la vârstnici), telangiectazii, consum cronic de aspirină (sângerări în pânză)
- intestinul subţire : ulcer, diverticul Meckel (frecvent la copilul mare/dificil de diagnosticat), angiodisplazii, polipi, carcinom, enterite regionale (Crohn), invaginare, volvulus, leiomiom, helmintiază
- Tractul biliar : sângerare intrahepatică, carcinom, colelitiază, carcinom, traumatisme
- colonul : diverticuli, polipoză (degenerată sau nu), carcinom (predominant cel de cec şi colon ascendent), telangiectazii, colită ulcerativă, amebiază
- rectul : hemoroizi, ulceraţii, fisuri, carcinom

2. Pierderi genitale – cauza cea mai frecventă la femei
- meno-metroragii disfuncţionale
- tumori benigne – fibrom, adenomiom
- neoplazii
- boli inflamatorii cronice

3. Pierderi la nivelul aparatului respirator
- hemoptizii repetate – infecţii cronice (tbc), neoplazii
- hemosderoză pulmonară idiopatică - semnalată la copii, se manifestă prin hemoptizii recidivante, pneumonii recurente şi anemie prin carenţă marţială

4. Pierderi prin tractul urinar
- hematurie : litiază în mobilizare, boli inflamatorii, neoplasm renal, vezical, polip vezical, neoplasm prostatic, sdr Goodpasture, bilharzioză vezicală
- hemoglobinurie : hemoglobinurie paroxistică nocturnă, hemoglobinurie paroxistică *a frigori*, hemoglobinurie de marş

5. Pierderi O.R.L. : epistaxis recidivant – boală Rendu-Osler, leziuni inflamatorii, neoplazice

6. Flebotomii : donatori, terapeutice (poliglobulia primitivă), autoindusă (patomimii - sdr Lastenie de Ferjol)

7. Tulburări ale hemostazei cu sângerări cronice

CONSECINŢELE CARENŢEI MARŢIALE

1. Anemia

- carenţa marţială antrenează o anemie centrală prin insuficienţă medulară calitativă funcţională (diseritropoieză).

- consecinţele asupra eritropoiezei vor fi :

- reducerea încorporării de atomi de fier în molecula de hem cu scăderea încărcării cu hemoglobină a eritroblaştilor şi eritrocitelor (hipocromie) şi

- creşterea numărului de mitoze ale precursorilor eritrocitari, cu diminuarea volumului celular (microcitoză).

- se asociază, în mai mică măsură, alte mecanisme care suplimentează gradul de anemie :

- un grad de hemoliză (3% din hematii se distrug zilnic faţă de nivelul normal de 1,7%) şi

- un grad de eritropoieză ineficace.

2. Consecinţe extrahematologice

- carenţa marţială se manifestă la nivelul diverselor enzime tisulare care au în componenţă atomi de fier. Câteva din aceste efecte sunt :

- reducerea capacităţii de fagocitoză şi distrucţie bacteriană

- apariţia de tulburări ale funcţiei motorii şi ale capacităţii de concentrare – predominant la copii cu diminuarea randamentului şcolar

- apariţia de modificări la nivelul mucoaselor, predominant la nivel oral şi bucal

- modificari ale fanerelor – friabilitatea părului, koilonikie

Carenţa marţială evoluează în 3 stadii :
- diminuarea fierului din rezerve (hipoferitinemie, creşterea transferinei şi a absorbţiei digestive);
- eritropoieza sideroprivă (scăderea feritinemiei, a coeficientului de saturaţie a siderofilinei şi a fierului seric cu creşterea transferinei) ;
- instalarea anemiei microcitare, hipocrome.

DIAGNOSTIC POZITIV

1. Semne clinice

În mod frecvent, instalarea anemiei este lent-progresivă, astfel este bine tolerată timp îndelungat şi este descoperită tardiv, la valori mult scăzute ale hemoglobinei, uneori întâmplător, cu ocazia unui bilanţ medical. Manifestările sunt :
- sindrom anemic : astenie, fatigabilitate, dispnee de efort, palpitaţii, cefalee, vertije, ameţeli, stări lipotimice, scotoame, acufene, precipitarea crizelor anginoase la cei cu afecţiuni coronariene
- examenul clinic evidenţiază :
  * paloare sclerotegumentară cu tentă albicioasă
  * tegumente uscate, asociind uneori prurit (după baie)
  * anomalii ale fanerelor : plato-koilonichie, friabilitatea unghiilor si părului (albire precoce)
  * anomalii ale mucoasei : ragade comisurale, glosită atrofică, disfagie Plummer-Vinson asociată cu un inel de constricţie subcricoidian, gastrită atrofică cu hipo-anaclorhidrie, atrofie vulvară pruriginoasă
- pica
- splenomegalie moderată (prezentă în 10% din cazuri)
- diminuare a capacităţii musculare, de concentrare.

2. Examene de laborator

2.1. Hemograma :

- anemie de intensitate variabilă, adesea cu valori ale Hb sub 7 g/dl. Anemia este hipocromă (CHEM < 25pg) microcitară (VEM < 75μ^3). Hipocromia precede adesea microcitoza. Frotiul de sânge periferic confirmă microcitoza, hipocromia cu celule în ţintă, anulocitele, asociind un grad variabil de poikilocitoză şi anizocitoză.
- leucocitele sunt adesea normale. Uneori se asociază o leuco-neutropenie.
- frecvent se asociază o hiperplachetoză moderată (risc trombotic)
- reticulocitele sunt, în general, scăzute, indicând o anemie aregenerativă, de origine centrală.

2.2. Explorarea medulară

- mielograma nu este absolut necesară pentru diagnostic
- anomaliile morfologice evidenţiabile sunt : eritroblaşti cu aspect neregulat, contur festonat, cytoplasmă redusă cantitativ, cu basofilia menţinută în formele tinere
- interesul este reprezentat de evidenţierea fierului medular. Se foloseşte coloraţia Perls cu albastru de Prusia. Majoritatea fierului evidenţiat este cel din hemosiderina din histiocitele medulare. Feritina fiind hidrosolubilă, este adesea pierdută la fixarea frotiului.Totuşi, o mică parte este evidenţiată în aproximativ 20% din eritroblaşti, denumiţi sideroblaşti. Granulele de fier sunt puţine şi răspândite în citoplasmă. În anemia prin carenţă marţială atât hemosiderina, cât şi sideroblaştii sunt absenţi – semn diagnostic important.

2.3. Bilanţul metabolismului fierului

- fierul seric este mult scăzut – sub 15 µmol/l
- transferina sau siderofilina este crescută (>250-350mg/dl)
- coeficientul de saturaţie al siderofilinei este scăzut (sub 20%)
- feritina este scăzută (sub 10ng/ml) – reflectă comportamentul de depozit al fierului. Este adesea primul parametru alterat în carenţa marţială, atrăgând atenţia asupra riscului de dezvoltare a unei anemii.

3. Diagnostic etiologic

- constă în depistarea surselor de sângerare. Uneori, acestea sunt evidente. În mare parte din cazuri însă, acestea rămân oculte, impunând multiplicarea investigaţiilor de orientare şi depistare

➔ pentru sângerările ginecologice se impune

- anamneză atentă asupra : caracteristicilor ciclului – regularitate, frecvenţă, durată, intensitate, prezenţa de metroragii, cu atât mai mult în post-menopauză
- examen clinic local
- investigaţii imagistice – căutarea unui fibrom uterin

➔ pentru sângerările digestive

- anamneză pentu căutarea melenei, rectoragiilor, acuzelor digestive de tip dyspeptic gastric sau tulburărilor de tranzit
- tuşeu rectal
- determinarea hemoragiilor oculte

- fibroscopie eso-gastro-duodenală, colonoscopie
- examene cu bariu – gastric (şi în Trendelemburg pentru hernia hiatală), colonoscopie
- scintigrafia cu hematii marcate poate fi utilă în depistarea punctelor de sângerare greu depistabile endoscopic

➔ efectuarea de examenr ORL, Rx thoracic, fibroscopie bronşică

➔ căutarea unei anomalii a hemostazei

4. Diagnostic diferenţial

4.1. Anemia inflamatorie sau anemia din bolile cronice

- survine în contextul unei boli inflamatorii cornice sau al unei neoplazii, context ce poate fi manifest, cunoscut sau ocult, necunoscut
- fierul este blocat în macrofage, cu împiedicarea accesului la eritopoieză
- anemia este adesea hipocromă, microcitară, cu aspect morfologic identic celui din carenţa marţială
- fierul seric este scăzut în ambele patologii
- capacitatea de legare a fierului este scăzută, cu un procent de saturaţie a transferinei crescut în bolile cronice, situaţie inversă celei din carenţa marţială
- concentraţia feritinei serice este normală sau crescută
- se asociază semne inflamatorii – creştere disproporţionată a VSH în raport cu severitatea anemiei, fibrinogen crescut, alfa2-globuline crescute
- uneori, diagnosticul diferenţial este tranşat de analiza măduvei care arată prezenţa fierului în forma hemosideremică captat în macrofage
- argumentul terapeutic – anemia inflamatorie nu răspunde la tratamentul substitutiv marţial, doar la tratamentul bolii cronice de fond

4.2. Forme minore (heterozigote) de talasemie

- prezintă asemănări : hipocromie, microcitoză, prezenţa de hematii în ţintă (mai ales în talasemie)
- numărul de eritrocite este adesea normal sau crescut
- numeroase cazuri asociază microcitoză fără anemie
- anemia este regenerativă cu un număr de reticulocite crescut
- fierul seric este crescut
- istoricul familial este sugestiv
- electroforeza hemoglobinei tranşează diagnosticul

4.3. Anemia sideroblastică sideroacrestică (ARS)

- reprezintă o formă de sindrom mielodisplazic
- morfologia eritrocitară periferică este similară celei din anemia prin carenţă marţială, dar se poate asocia o macrocitoză. Adesea se asociază şi alte citopenii.
- analiza metabolismului marţial arată mai frecvent o supraîncărcare cu fier (şi ca rezultat al transfuziilor)

- examenul măduvei hematopoietice evidenţiază anomalii morfologice de tip displazic, prezente pe toate liniile, şi prezenţa caracteristică a sideroblaştilor cu granulele de fier dispuse în inel sau în potcoavă în jurul nucleului
- tratamentul de bază este cel substitutiv, transfuzional

4.4. Hipotiroidie

- asociază o anemie normocromă normocitară, dar, în condiţiile unor valori adesea scăzute ale fierului seric, se poate interpreta greşit ca o anemie prin carenţă marţială
- femeile cu mixedem pot asocia adesea menoragii conducând la carenţă marţială

4.5. Atransferinemie congenitală

- este o boală congenitală extrem de rară
- se manifestă prin anemie hipocromă microcitară asociind hiposideremie, scăderea capacităţii de legare a fierului, absenţa transferinei la dozajul imunologic

TRATAMENT

Tratamentul pacientului cu anemie prin carenţă marţială are mai multe scopuri :
- recuperarea unei eritopoieze în regim normal, cu normalizarea parametrilor eritocitari
- refacerea rezervelor în fier ale organismului prin suplimentarea aportului
- suprimarea cauzelor de carenţă

1. Tratamentul etiologic

Se impune, pe cât este posibil, depistarea cauzei/lor de carenţă şi suprimarea ei/lor – tratamentul medicamentos al unor leziuni ulcerative sau inflamatorii ale tubului digestiv, rezolvarea chirurgicală a unor leziuni proliferative (benigne sau maligne) sângerânde, tratamentul unor sângerări genitale disfuncţionale, tratamentul unor diateze hemoragice, etc...

2. Tratamentul patogenic - tratament de substituţie, marţial. Se realizează cu preparate de fier care pot fi administrate oral sau parenteral.

A. Calea orală - este mai simplă, mai ieftină şi mai sigură

- se preferă utilizarea de săruri feroase simple – sulfat, fumarat, gluconat, ascorbat – fără alte combinaţii. Se preferă administrarea între mese, absorbţia antingând 8-20%. În caz de intoleranţă, se poate administra post-prandial, dar absorbţia este de doar 1% ;
- se administrează doze 150-200 mg fier elementar zilnic, în funcţie de toleranţa digestivă, până la corectarea anemiei, apoi se continuă cu o doză de 100 mg/zi pe o durată de 4-6 luni pentru refacerea rezervelor ;
- la copil se administrează doze de 10 mg/kg/zi. Se preferă fumaratul, mai bine tolerat, şi se va evita sulfatul de fier care este toxic ;
- în mod clasic, « criza reticulocitară » - creşterea numărului de reticulocite – se observă după 10-14 zile de tratament;
- tratamentul trebuie urmat minimum 4 luni. În acest moment, dozarea feritinemiei este importantă. Normalizarea sa, ca şi a hemogramei, permite oprirea tratamentului;
- dacă etiologia persistă, tratementul ar trebui continuat;

- la unii pacienţi pot apărea efecte secundare de tipul : pirozis, greaţă, vărsături, crampe abdominale, diaree, cu severitate variabilă. În această situaţie, se preferă reducerea de fier la 1/3, cu o creştere progesivă a dozelor;
- sărurile feroase per os colorează scaunele în negru. Pacientul trebuie prevenit. Acest lucru poate afecta aprecierea unei eventuale sângerări digestive (a nu se confunda cu melena).

B. Administrarea parenterală este indicată în caz de :
- intoleranţă digestivă majoră, neinfluenţată de reducerea dozelor
- incapacitate de a coopera în administrarea tratamentului de către pacient
- pierderi ce depăşesc capacitatea de recuperare cu fierul administrat oral
- afecţiuni digestive – colită ulcerativă, malabsorbţie, rezecţii intestinale extinse
- donare pentru autotransfuzie.

- Se utilizează fierul dextran prezentat ca fiole de 2 ml cu 100 mg fier.
- Necesarul de fier de administrat se calculează conform formulei : Necesarul total (mg) = Deficitul de hemoglobină (Hb ideală - Hb reală) x G(kg) x 3.
- Doza totală stabilită se va face după testul de hipersensibilitate la fierul injectabil prin administrarea intramusculară a 0,5 ml sub supraveghere medicală (risc de şoc anafilactic). În absenţa efectelor adverse, se va continua administrarea în ritm de 50-100 mg/zi până la un total de maximum 2.000 mg. Se va verifica feritinemia, iar în caz de valori scăzute se va repeta ciclul.
- Efectele adverse semnalate la tratamentul cu preparate de fier injectabile sunt : durere locală, edem, artralgii, febră care survine în câteva ore de la administrare, adenopatii regionale, hipotensiune, cefalee, urticarie, şoc anafilactic, sarcoame la locul de injecţie, hemocromatoză (prin excesul de administrare).

3. Răspunsul terapeutic

Tratamentul corect administrat, în contextul rezolvării cauzelor, va determina :
- creşterea reticulocitozei (criza reticulocitară), atingând 5–10%, după 10–14 zile (test terapeutic)
- corectarea nivelului Hb serice în una - două luni
- dispariţia microcitozei şi anomaliilor biochimice
- normalizarea feritinemiei după 4-6 luni de tratament

În caz de întârziere sau absenţă a răspunsului terapeutic scontat, se vor analiza următoarele variante :
- pierderile nu sunt complet controlate
- preparatul de fier nu este cel recomandat – se vor evita preparatele cu eliberare intestinală sau cu eliberare lentă (fierul este eliberat după zona optimă de absorbţie)
- doza este necorespunzătoare necesarului şi pierderilor
- complianţa pecientului la tratament este necorespunzătoare
- posibilitatea existenţei unei malabsorbţii, a unei boli inflamatorii sau neoplazice care afectează absorbţia
- asocierea unei alimentaţii care inhibă absorbţia fierului

- diagnosticul inițial incorect

4. Transfuziile

- În marea majoritate a cazurilor, nu sunt necesare, datorită instalării gradate a anemiei, permițând organismului să se adapteze progresiv la nivelul scăzut al hemoglobinei. Nivelul de toleranță este suficient de ridicat.
- Se indică în cazul în care nivelul anemiei constituie un risc de decompensare al diferitelor organe, mai ales cu tare preexistente – cord, rinichi, plămân, creier.
- Se recomandă utilizarea de concentrate eritrocitare, administrate lent, pentru a evita fenomenele de încărcare lichidiană cu decompensare cardiacă.

5. Profilaxie - în sarcină, 50mg/zi din luna a-IV-a, la donatori

ANEMII HEMOLITICE

GENERALITĂȚI

Anemiile hemolitice constituie un grup heterogen de entități nosologice care au în comun trăsături clinico-biologice ce se constituie în sindromul de hemoliză. Acest sindrom se datorează scurtării duratei de viață a hematiilor, secundară distrucției globulare exagerate, depășind capacitatea de regenerare medulară. Distrucția eritrocitară precoce se datorează fie acțiunii unor factori agresivi din mediul extracelular, fie producerii unor eritrocite cu defecte intrinseci. Aceste defecte intrinseci care predispun la hemoliză pot afecta membrana celulară, hemoglobina produsă sau enzimele implicate în metabolismul eritrocitar.

Hemoliza poate avea loc extravascular (în majoritatea cazurilor) sau intravascular. Majoritatea anemiilor hemolitice se caracterizează prin hemoliza extravasculară. Eritrocitele sunt mai întâi captate și scoase din circulație. Ele sunt fagocitate de către macrofagele din splină și ficat și apoi distruse. Doar puțină hemoglobină rezultată ajunge în circulație totuși, haptoglobina scade, mai ales în formele cronice. Deoarece eritrocitele sunt bogate în lacticohidrogenază (LDH), nivelul seric al acesteia crește, mai ales în formele cronice, în puseele hemolitice și în hemolizele extravasculare.

În urma distrucției eritrocitare în sistemul reticuloendotelial se va elibera fierul, care este preluat de transferină și transportat către depozite, și bilirubina neconjugată, care se cuplează cu albumina și este transportată la ficat pentru conjugare și eliminare. În cazurile în care hemoliza depășește un anumit nivel de intensitate, se vor găsi valori crescute ale fierului seric și ale bilirubinei totale, predominant neconjugate. În hemolizele intravasculare, dar și în cele extravasculare în puseu, se poate evidenția hemoglobina liberă în ser, în urină, ca și hemosiderinurie.

Procesul de hemoliză cu scoaterea din circulație a unui număr de eritrocite va antrena scăderea capacității de transport a oxigenului de către sânge, ceea ce va constitui un stimul eritropoietic pentru măduva osoasă. Acest fapt va antrena o hiperplazie a populației eritroide medulare, cu modificarea sau chiar inversarea raportului dintre seria granulocitară/eritrocitară (normal 3/1). Eficacitatea reacției medulare compensatorii se reflectă în numărul de reticulocite (procentual sau absolut). În mod fiziologic, măduva normală poate crește producția eritrocitară până la de opt ori nivelul de bază. În momentul în care hemoliza depășește capacitatea de regenerare medulară, se instalează anemia. În cazul în care se asociază factori ce afectează măduva (deficite nutriționale, procese inflamatorii, infecții...), anemia se instalează precoce.

DIAGNOSTIC

1. Anamneza

Detalierea istoricului acestor pacienţi va pune în evidenţă elemente comune oricărui sindrom anemic (astenie, fatigabilitate, scăderea capacităţii de concentrare şi a forţei musculare, ameţeli, vertije, palpitaţii, precipitarea crizelor anginoase sau decompensărilor cardiace…), asociind şi elemente orientative spre :

- anemie hemolitică congenitală - prezenţa în copilărie a unui sindrom anemic rezistent la terapia substitutivă, istoric familial de sindrom anemic asociind icter, splenomegalie inexplicabilă, splenectomie sau colecistectomie la vârste precoce;
- anemie hemolitică dobândită - instalarea rapidă a semnelor de anemie, în absenţa unor sângerări evidente, asocierea unor boli de colagen, boli autoimune, sindroame limfoproliferative, consumul unor medicamente cunoscute ca potenţial hemolitice (mecanism imunoalergic)

2. Semnele clinice

- sindromul anemic cu instalare relativ rapidă sau insidioasă
- paloarea asociază un subicter sclero-tegumentar
- splenomegalie +/- hepatomegalie – splenomegalia apare frecvent în formele congenitale. Splina este adesea balonizată, rareori tumorală, putând asocia simptome legate de compresiunea organelor din vecinătate ;
- semne de litiază veziculară (litiază pigmentară în hemolizele cronice);
- ulcer cronic de gambă - sunt complicaţii rare, care survin în hemolizele congenitale, în special în sferocitoză şi în drepanocitoză. Frecvent, au tendinţa de a fi bilaterale. Apar la nivelul maleolelor interne şi se extind către cele externe, putând lua o dispoziţie circumferenţială;
- modificări ale scheletului prin hiperplazia eritroidă medulară compensatorie la cei cu anemii hemolitice congenitale ;
- crize hemolitice cu frison, febră, alterarea stării generale, cefalee, dureri lombare, abdominal sau de membre, icter, urini hipercrome, oligo-anurie.

3. Bilanţul biologic

- ***Semne de hiperdistrucţie globulară***

- scăderea duratei de viaţă a eritrocitelor – demonstrată prin tehnici de medicină nucleară cu hematii marcate cu izotopi de Crom ;
- hiperbilirubinemie indirectă;
- creşterea LDH serice;
- scăderea hemoglobinei glicozilate – normal 6,7% (6-8%)/în hemolize 3,9% (2-5,5%) ;
- scăderea haptoglobinei;
- creşterea fierului seric;

- ***Semne de hemoliză intravasculară***

- hemoglobinemie
- hemoglobinurie

- hemosiderinurie
- methemalbuminemie

- ***Semne de regenerare compensatorie***

- macrocitoză moderată
- reticulocitoză peste 150.000/mm^3
- prezenţa în sânge de eritroblaşti şi hematii cu punctaţii bazofile
- mielemie
- mielogramă - hiperplazie eritroblastică

- ***Analize speciale***

- studiul rezistenţei osmotice → scăzută în sferocitoza ereditară
- analiza morfologică pe frotiul sanguin - anomalii morfologice sugestive :
  * sferocite (sferocitoză ereditară, anemie autoimună, arsuri);
  * eliptocite (eliptocitoză ereditară);
  * stomatocite (alcoolism);
  * acantocite (anemia din hepatopatii cornice);
  * echinocite (deficit în piruvat kinază, uremia);
  * drepanocite (drepanocitoză);
  * hematii în ţintă (talasemie);
  * schizocite (hemolize mecanice).

- testul autohemolizei → măsoară importanţa hemolizei spontane care survine după incubarea sângelui defibrinat, la temperatura de 37°C, timp de 48 ore. Se compară cu hemoliza survenită în condiţiile adăugării de glucoză sau ATP înainte de incubare. Normal, hemoliza spontană este de 2% şi doar de 0,3% în caz de adăugare de glucoză su ATP. Sunt descrise trei tipuri patologice :
  - tipul I – autohemoliză uşor sau moderat crescută corectată parţial de adăugarea glucozei sau ATP - în deficitul de G6PD
  - tipul II – autohemoliză crescută (13%) corectată de ATP dar nu şi de glucoză - în deficitul în piruvat kinază
  - tipul III autohemoliză mult crescută corectată parţial sau aproape complet de incubarea cu glucoză sau ATP - în sferocitoză

- dozarea enzimelor eritrocitare
- electroforeza hemoglobinei
- testul Coombs direct (detectează autoanticorpii fixaţi pe membrana eritrocitară) şi indirect (pentru autoanticorpii circulanţi)

ETIOLOGIE - vezi clasificarea

DEMERS DIAGNOSTIC

Demersul diagnostic în cazul suspiciunii de anemie hemolitică cuprinde mai multe etape:

1. Demonstrarea prezenţei anemiei hemolitice

- Se realizează pe baza asocierii anemiei cu semne de distrucţie rapidă a eritrocitelor şi/sau a semnelor de producţie eritrocitară accelerată. Nici un test, luat izolat, nu este suficient pentru diagnostic, ele trebuie practicate împreună pentru a defini tabloul de anemie hemolitică.
- In această etapă, se impune şi eliminarea situaţiilor care asociază semne de catabolism crescut al hemului sau de regenerare eritrocitară crescută :

- Hiperbilirubinemie indirectă asociată cu anemie:
  - eritropoieza ineficace (avort intramedular) – sindroamele mielodisplazice, anemiile prin deficit folic sau B12
  - hemoragii intracavitare sau tisulare (hematoame) cu metabolizarea hemoglobinei şi rezorbţia bilirubinei
- Reticulocitoză asociată cu anemie:
  - hemoragii
  - regenerarea terapeutică în deficitele în folaţi şi B12
  - regenerarea după insuficienţe medulare de diferite cauze, inclusiv în context de alcoolism
- Sindroame icterice fără context anemic

2. Determinarea etiologiei anemiei hemolitice

➢ Primul test recomandat este testul Coombs :

→ în caz de test pozitiv, se va lua în considerare posibilitatea unei anemii hemolitice autoimune, de cauză extracorpusculară, şi se va proceda la precizarea tipului, cauzei sau contextului (vezi capitolul)

→ în caz de test negativ, se va lua în considerare fie o anemie prin defect intrinsec, fie o hemoliză prin traumatism mecanic.

➢ În această a doua situaţie, se va determina concentraţia hemoglobinei eritrocitare medii (CHEM) :

→ CHEM peste 36 mg/dl - se vor practica testele de autohemoliză şi de fragilitate osmotică. În cazul în care sunt patologice, diagnosticul se orientează spre o sferocitoză sau eliptocitoză congenitale. În cazul în care testele sunt normale, se va orienta spre un alt defect intrinsec (hemoglobină patologică sau deficit enzimatic);

→ CHEM scăzut, sub 36 mg/dl - se va analiza morfologia eritrocitară pe frotiul sanguin:

o prezenţa de schizocite – se va căuta o cauză de traumatism mecanic – proteze valvulare sau vasculare, purpură trombotică trombocitopenică, microangiopatii ;

o prezenţa de sferocite/eliptocite – se va practica testul de autohemoliză şi de fragilitate osmotică. În cazul în care sunt patologice, diagnosticul se orientează spre o sferocitoză sau eliptocitoză congenitale. În cazul în care testele sunt normale, se va orienta spre un alt defect intrinsec (hemoglobină patologică sau deficit enzimatic);

o prezenţa de hematii cu morfologie relativ normală - se va orienta spre un defect intrinsec legat de hemoglobină sau enzime eritrocitare şi se va trece la investigaţia următoare :

Tabel 13

CLASIFICAREA ETIOPATOGENICĂ A ANEMIILOR HEMOLITICE	
I. Anemii hemolitice ereditare	II. Anemii hemolitice dobândite
A. Defecte ale membranei eritrocitare a. Sferocitoza ereditară b. Eliptocitoza ereditară c. Stomatocitoza ereditară d. Acantocitoza (Abetalipoproteinemia) e. Deficitul în lecitin-colesterol aciltransferază f. Antigenul Rh nul g. Anemia hemolitică cu exces de fosfatidil colină B. Deficit enzimatic pe calea glicolitică eritrocitară a. Deficit în piruvat kinază b. Deficit fosfoglucoz izomerază c. Deficit în fosfofructokinază d. Deficit în hexokinază C. Deficit în enzimele metabolismului nucleozidic a. Deficit în pirimidin 5'-nucleotidază b. Deficit în adenozin dezaminază c. Deficit în adenozin trifosfatază d. Deficit în adenilat kinază D. Deficit în enzimele şuntului pentozic a. Deficit în G-6-PD b. Deficit în glutamil sintetază c. Deficit în glutation sintetază d. Deficit în glutation reductază E. Deficit în structura şi sinteza globinei a. Talasemii b. Hemoglobine instabile c. Drepanocitoză şi alte hemoglobinopatii homozigote d. Hemoglobină H e. Hemoglobinopatii duble heterozigote f. Hemoglobine M	A. Anemii hemolitice imunologice a. Hemoliza prin incompatibilitate transfuzională b. Bolile hemolitice ale noului-născut c. Anemiile hemolitice autoimune cu anticorpi la cald 1. idiopatice 2. secundare - infecţii virale, micoplasme - boli maligne - LMNH, LLC - stări de imunodeficienţă - boli autoimmune - LES, PR 3. induse medicamentos d. Anemii autoimune cu anticorpi la rece 1. Boala hemaglutininelor idiopatică/secundară 2. Hemoglobinuria paroxistică la rece B. Anemia hemolitică traumatică a. Proteze valvulare, anomalii cardiace b. Sindrom hemolitic-uremic c. Purpură trombotică trombocitopenică d. Coagulare intravasculară diseminată e. Hemoliză din reacţia grefă contra gazdă f. Cancer g. Hemoglobinurie de marş C. Boli infecţioase a. paraziţi : malaria, toxoplasmoză, leishmanioză, tripanosomiază, babesioză b. bacterii : bruceloză, clostridia, febră tifoidă D. Agresiuni chimice a. agenţi oxidanţi (medicamente, chimicale) b. agenţi *nonoxidanţi* c. veninuri E. Agresiuni fizice - agresiunea termică F. Hemoglobinurie paroxistică nocturnă G. Anemie în bolile hepatice

➢ Electroforeza hemoglobinei :

→ electroforeză anormală -> hemoglobinopatii (de tip talasemie sau hemoglobină anormală)

→ electroforeză normală şi cu teste pentru hemoglobine instabile (testul la căldură, la isopropanol) negative – se vor practica testul de hemoliză la sucroză şi determinarea hemosiderinei urinare :

- testele sunt pozitive – situaţia este sugestivă pentru hemoglobinurie paroxistică nocturnă (v. capitolul)
- testele sunt negative – se suspicionează un deficit enzimatic (piruvat kinază, G6PD şi altele).

ANEMII HEMOLITICE EREDITARE – DEFECTE MEMBRANARE

Membrana eritrocitară este formată din două straturi fosfolipidice intercalate cu molecule de colesterol neesterificat şi glicolipide. Fosfolipidele sunt dispuse asimetric în cele două straturi: fosfatidilcolina şi sfingomielina sunt situate în stratul extern, în timp ce fosfatidil etanolamina şi fosfatidil serina sunt situate predominant în stratul intern. La fosfolipide se asociază şi proteine dispuse asimetric. Ele formează trei categorii :

- Glicoproteinele sunt situate pe suprafaţa externă a membranei constituind antigenele eritrocitare, receptorii eritrocitari şi proteinele de transport.
- Proteinele integrale pătrund în sau străbat straturile fosfolipidice, fixându-se în miezul lipidic hidrofobic al membranei.
- Un grup de proteine formează o reţea sub-membranară, constituind citoscheletul.

Citoscheletul este format, în principal, de reţeaua realizată de spectrină. Interacţiunile dimerilor de spectrină sunt responsabile de deformabilitatea laterală a scheletului, deci de stabilitatea membranei, permiţând deformabilitatea eritrocitară în microcirculaţie.

Afectarea constituenţilor membranari antrenează alterări ale integrităţii şi/sau stabilităţii membranare, antrenând apoi o reducere a duratei de viaţă a hematiilor cu distrugerea lor prematură.

SFEROCITOZA EREDITARĂ

Generalităţi

Este o boală hemolitică familială, caracterizată prin anemie, icter intermitent, splenomegalie şi răspuns favorabil la splenectomie.

Este cea mai frecventă anemie hemolitică la populaţia de origine din Europa de nord – survine la 0,02% din aceasta. Este posibil ca cifra reală să fie subestimată datorită cazurilor asimptomatice care rămân nediagnosticate.

Reprezintă o boală cu transmisie autosomal dominantă. Totuşi nu au fost identificate cazuri homozigote pentru gena implicată, ceea ce sugerează faptul că starea homozigotă este incompatibilă cu viaţa.

Fiziopatologie

Defectul principal este reprezentat de un deficit în spectină, ceea ce antrenează o instabilitate a citoscheletului care constituie un suport insuficient pentru straturile lipidice. În timp, se pierd lipide sub formă de microvezicule lipidice. Se ajunge la pierderi din suprafaţa membranei eritrocitare cu transformarea din forma de disc biconcav în cea sferică, având

drept consecinţă diminuarea deformabilităţii celulare şi dificultăţi la trecerea prin microcirculaţie, în special în splină.

Modificările membranare au şi consecinţe metabolice : creşterea fluxului transmembranar de sodiu şi potasiu → creşterea activării ATP-azei membranare → accelerarea degradării ATP → creşterea glicolizei şi scăderea concentraţiei 2,3-difosfoglicerat.

Un rol important în scurtarea supravieţuirii sferocitelor îl are splina → în captarea sferocitelor în sistemul reticulo-endotelial cu distrugerea lor, dar şi în modificarea lor la trecerile repetate, "pregătindu"-le pentru distrugere.

Manifestări clinice

Tabloul clinic este reprezentat de triada : anemie, icter, splenomegalie. Semnele şi simptomele sunt foarte variabile în ceea ce priveşte vârsta de debut şi severitatea manifestărilor.

→ ***Forme severe*** – debutul este relativ rapid după naştere (încă din prima săptămână), cu predominanţa sindromului icteric cu risc crescut de icter nuclear, ceea ce impune realizarea de transfuzii cu schimb total de sânge.

→ ***Forme moderate*** – hemoliza este redusă şi nu depăşeşte capacitatea de regenerare a măduvei, încât anemia nu devine manifestă. Boala este descoperită la vârsta adolescenţei sau adultă, fie prin descoperirea splenomegaliei, fie prin apariţia unei complicaţii - litiaza biliară pigmentară -, care poate deveni manifestă prin fenomene algice sau obstructive.

→ ***Forme uşoare*** - care pot evolua asiptomatic până la vârste înaintate, când survine o încetinire a hematopoiezei, reducând capacitatea de acoperire a pierderilor.

Sindromul anemic şi icteric apare în general în pusee ritmate de suprasolicitare fizică, psihică, de expunere la frig sau episoade infecţioase. Examenul clinic evidenţiază, de regulă, splenomegalie. Ficatul şi funcţiile hepatice sunt în limite normale.

Evoluţia bolii poate fi marcată de două complicaţii majore : crizele anemice şi apariţia litiazei pigmentare.

Crizele anemice sunt de trei tipuri :

- ***Crizele hemolitice*** – survin mai ales în context infecţios, cu agravarea anemiei şi, mai ales, a sindromului icteric.
- ***Crizele aplastice*** – se datorează inhibării brutale şi tranzitorii a activităţii celulelor stem hematopoietice. Se instalează un episod anemic sever fără a asocia semnele de hemoliză. Un agent etiologic frecvent incriminat este Parvovirusul tulpina B19.
- ***Crizele megaloblastice*** – se datorează deficitului în folaţi care survine în contextul efortului eritropoietic compensator cronic. Crizele se manifestă, mai ales, în timpul sarcinilor şi după ieşrea dintr-o criză aplastică.

Adulţii pot instala, uneori, o agravare brutală a sindromului icteric cu hiperbilirubinemie atât directă, cât şi indirectă, datorată sindromului obstructiv de căi biliare principale, indus de litiaza pigmentată. Aceasta apare datorită hipersecreţiei de bilirubină în căile biliare, în urma procesului hemolitic cronic cu metabolizare crescută a hemului la bilirubină.

Investigaţii paraclinice

- *hemoglobina* – ere valori variabile. Cu excepţia puseelor hemolitice, aplastice sau megaloblastice, valorile pot fi normale sau moderat scăzute.
- *indicii eritrocitari* : VEM este normal, CHEM este crescut (> 36%) prin deshidratarea celulară ca urmare a pierderii apei şi potasiului.
- *hiper-reticulocitoză* cu reticulocitele între 5 – 20%
- leucocitele şi trombocitele în limite normale
- examenul *frotiului de sânge* evidenţiază sferocite, uneori microsferocite – eritrocitele sunt mici, rotunde, hipercrome, cu dispariţia zonei centrale palide (corespunzătoare pierderii formei de disc biconcav)
- *mielograma* : măduva hematopoietică hipercelulară evidenţiază creşterea populaţiei eritrocitare şi modificarea raportului granulocite/eritrocite
- *biochimic* : semne de hemoliză cu hiperbilirubinemie predominant indirectă (neconjugată) şi scăderea haptoglobinei
- *testul Coombs* direct şi indirect - negativ
- *testul de fragilitate osmotică* - este pozitiv. Principiu : eritrocitele introduse într-o succesiune de soluţii hipotone se vor umfla prin intrarea progresivă a apei pentru atingerea echilibrului osmotic. Când voumul de apă intrat depăşeşte capacitatea volumică a eritrocitului, acesta explodează cu eliberarea hemoglobinei. Sferocitele, având un raport suprafaţă/volum mai mic, va liza în soluţii mai puţin hipotone decât celulele normale, arătând o fragilitate osmotică crescută.
- *testul de autohemoliză* - principiu : hematiile normale incubate timp de 48 ore la 37^0C în propria plasmă hemolizează spontan în proporţie de 3,5%. Hemoliza spontană este redusă la 0,6% în caz de adăugare la incubare de glucoză ca sursă de energie suplimentară. La cei cu microsferocitoză, hemoliza în aceleaşi condiţii este de 10-50%, corectată sau nu de asocierea de glucoză. Testul este mai puţin fiabil şi dă rezultate fals pozitive.

Tratament

a. Tratamentul de susţinere (presplenectomie)

- exsanguinotransfuzii la noii-născuţi cu formă severă, cu sindrom icteric intens şi hiperbilirubinemie neconjugată datorită anemiei şi riscului crescut de icter nuclear ;
- transfuzii cu concentrat eritrocitar în puseele de agravare a anemiei (crize hemolitice, aplastice) ;
- administrarea profilactică la toţi pacienţii de acid folic 1cp/zi pentru a compensa hiperconsumul cronic şi a preveni stările de deficit.

b. Splenectomia – tratament de elecţie

- reprezintă singurul tratament care ameliorează evoluţia bolii, reduce dramatic incidenţa hemolizei şi previne apariţia litiazei pigmentare;

- se poate asocia cu colecistectomie la cei cu litiază constituită şi manifestă ;
- indicaţia terapeutică a mai fost temperată de complicaţiile infecţioase care survin frecvent la cei splenectomizaţi, antrenând un grad de morbiditate şi mortalitate ;
- la cazurile survenite precoce (copii), se recomandă a amâna intervenţia până după vârsta de 6 ani.

c. Supravegherea post-splenectomie

- datorită riscului crescut la infecţii, predominant cu germeni încapsulaţi, se recomandă administrarea în pre-operator a vaccinului antipneumococic cu rapel la fiecare 5 ani, iar, ulterior, se va administra profilactic Penicilină formă orală, pe tot restul vieţii.

Alte defecte membranare ereditare :

- **ELIPTOCITOZA EREDITARĂ**
- **ANOMALIILE STOMATOCITARE**
- **ACANTOCITOZA**
- **ECHINOCITOZA**

ANEMII HEMOLITICE ERDITARE – ANOMALII ENZIMATICE (ENZIMOPATII)

- au fost semnalate numeroase anomalii ale enzimelor eritrocitare ;
- consecinţele acestor enzimopatii sunt foarte variate :
  - anemie hemolitică ca principală şi singură manifestare
  - anemie hemolitică ca parte dintr-un tablou de anomalii multisistemice, datorat afectării mai multor ţesuturi
  - afectarea severă a diferite ţesuturi, fără implicarea eritrocitară;
- marea majoritate a enzimelor afectate fac parte din căile de metabolizare a glucozei, fie calea glicolitică anaerobă, Embden-Mayerhoff, fie şuntul pentozo-fosfat, dar şi alte căi metabolice pot fi afectate, antrenând hemoliză.

1. ANOMALII ALE ŞUNTULUI PENTOZĂ MONOFOSFAT

- şuntul pentoză monofosfat metabolizează 5-10% din glucoza eritrocitară şi reprezintă singura sursă eritrocitară de nicotinamid adenină dinucleotid fosfat formă redusă (NADPH). Aceasta are rol esenţial în regenerarea glutationului redus (GSH), principalul agent reducător intracelular care protejează eritrocitul de agresiunea factorilor oxidanţi produşi intracelular de factori exogeni precum infecţiile, anumite medicamente, şi de reacţia între oxigen şi hemoglobină ;
- orice afectare a acestei căi prin alterarea uneia din enzimele participante va creşte riscul alterării eritrocitare de către factorii oxidanţi cu liza eritrocitară;
- hemoliza prin acelaşi mecanism poate surveni în alterarea enzimelor care participă la sinteza glutationului (glutamil-cistein sintetaza şi glutation sintetaza).

2. DEFICITUL IN GLUCOZĂ-6-FOSFAT DEHIDROGENAZĂ (G-6-PD)

- G-6-PD catalizează reacţia iniţială a şuntului de transformare a glucozei-6-fosfat în 6-fosfogluconat. Reacţia este esenţială (critică) pentru întreg şuntul, deci pentru protejarea antioxidantă a hematiei.
- până la ora actuală, au fost descrise peste 400 de variante ale G-6-PD;
- gena codantă a enzimei G-6-PD este localizată pe cromozomul X, având caracteristicile transmisiei gonosomale. Deficitul enzimatic este exprimat la subiecţii de sex masculin purtători ai unei alele mutante. La femeile heterozigote situaţia este variabilă. Eritrocitele de la subiecţii feminini cu deficit în G-6-PD sunt la fel de sensibile la hemoliză ca şi cele de la bărbaţii bolnavi.

I. Epidemiologie

- deficitul în G-6-PD este anomalia metabolică eritrocitară cea mai larg răspândită ;
- numărul bolnavilor este apreciat la peste 200 milioane pe întreg globul, cu variaţii regionale şi etnice ;
- ariile cu cea mai mare incidenţă sunt reprezentate de zonele tropicale şi subtropicale din emisfera estică;
- se remarcă o incidenţă crescută la populaţia neagră, la cea din bazinul mediteraneean (Sardinia, Grecia), din Extremul Orient, la unele grupuri de evrei (la care incidenţa atinge 60-70%).

II. Variante

OMS a clasat diferitele variante de G-6-PD în funcţie de importanţa deficitului şi de severitatea hemolizei. Au fost definite cinci clase de variante :

- ***Clasa I*** – variante cu un deficit enzimatic sever (sub 5-10% din nivelul normal) care se manifestă prin anemie hemolitică cronică nonsferocitică.
- ***Clasa II*** – variante cu deficit enzimatic sever, dar care se manifestă prin episoade de hemoliză severă pe un fond relativ normal.
- ***Clasa III*** – variante cu un deficit enzimatic moderat (10-60% din nivelul normal) manifeste clinico-biologic prin hemolize intermitente, de obicei declanşate de infecţii sau anumite medicamente.
- ***Clasa IV*** – variante normale, fără deficit enzimatic sau hemoliză.
- ***Clasa V*** – variante cu activitate enzimatică crescută dar fără implicaţie clinică.

III. Mecanismul hemolitic

Expunerea eritrocitelor cu deficit în G-6-PD la factori oxidanţi antrenează o suită de evenimente caracteristice :

- consumul ireversibil al stocului de glutation redus (GSH)
- oxidarea hemoglobinei, iniţial la methemoglobină (reversibilă), apoi la sulfhemoglobină (ireversibil)

- hemoglobina astfel denaturată precipită şi formează mase insolubile care se ataşează (prin punţi disulfid) pe faţa internă a membranei eritrocitare, formând corpii Heinz
- corpii Heinz sunt îndepărtaţi la trecerile eritrocitelor prin splină creând morfologia caracteristică, neregulată
- oxidarea grupelor sulfhidril membranare cu formarea de agregate polipeptidice prin punţi disulfid între dimerii de spectrină şi spectrină şi celelalte proteine membranare
- eritrocitele rigide şi nedeformabile rezultate sunt predispuse la stagnare şi distrugere în sistemul reticulo-endotelial din splină şi ficat cu apariţia hemolizei (predominant intravasculare).

IV. Manifestările clinice

Manifestările clinico-hematologice ale deficitului în G-6-PD îmbracă un spectru larg de sindroame hemolitice. Au fost descrise patru tipuri clinice :

❖ ***Anemia hemolitică congenitală nesferocitică***

- reprezintă modul de manifestare al variantelor din clasa I ;
- deficitul enzimatic este sever, antrenând o hemoliză cronică nedeclanşată de infecţii sau ingestia anumitor droguri;
- debutul se instalează în perioada neonatal, determinând icter neonatal, adesea sever, cu risc de icter nuclear, şi impunând exanguino-transfuzii. În copilărie, adolescenţă şi ulterior, manifestările hemolitice sunt mai discrete şi inconstante. Se asociază paloare, subicter scleral, splenomegalie discretă-moderată. Pe acest fond, pot apărea crize de hemoliză provocate de expunerea la factori oxidanţi sau crize aplastice precipitate de infecţia cu parvovirus.
- hemoliza este adesea compensată, anemia fiind discretă, dar asociind în evoluţia de fond o reticulocitoză de 10-15%. Se pot asocia anomalii funcţionale ale leucocitelor favorizând infecţii recurente.

❖ ***Hiperbilirubinemia neonatală***

Unele variante din clasa I şi clasa II (mediteraneeană) asociază icter neonatal cu hiperbilirubinemie şi risc de icter nuclear. Mecanismul nu este bine înţeles. Se suspicionează şi o scădere a clearance-ului bilirubinei neconjugate. Impune exanguin-transfuzie.

❖ ***Anemia hemolitică acută***

- este forma de manifestare predominantă a variantelor din clasa II ;
- în starea de fond, nu se semnalează anemie sau alterări morfologice eritrocitare ;
- hemoliza survine brutal numai în anumite contexte declanşatorii :
  - expunerea la medicamente cu potenţial oxidativ înalt care interacţionează cu hemoglobina şi oxigenul accelerând formarea radicalilor oxidanţi.
  - în anumite infecţii, agenţii infecţioşi implicaţi sunt variaţi : E colli, Salmonella, Streptoccocccus beta-hemolitic, rickettsii, virusurile hepatitice
  - anomalii metabolice – cetoacidoza diabetică.
- la 1-3 zile de la contactul cu factorul declanşator, se instalează brutal un tablou de anemie hemolitică cu paloare, icter, urini hipercrome, dureri abdominale şi lombare. Hemoglobina

scade brutal până la valori sub 5 g/dl. Analiza frotiului sanguin evidenţiază prezenţa de eritrocite cu corpi Heinz, microsferocite, fragmente celulare. Criza reticulocitară survine la 5-7 zile, moment în care procesul hemolitic încetează. Hemoliza este autolimitativă datorită apariţiei formelor eritrocitare tinere în care activitatea G-6-PD este mai intensă, scăzând sensibilitatea la agresiunile oxidante.

❖ ***Favismul***

- favismul este una dintre manifestările grave, cu potenţial letal a deficitului în G-6-PD ;
- hemoliza poate apărea după ingestia de bob (*Vicia fava*), o specie de fasole;
- simptomele se instalează brutal, în 5-24 ore de la ingestie, cu un tablou de hemoliză intravasculară : cefalee, greaţă, frisoane, dureri lombare, febră, urini roşii sau intens hipercrome, urmate de anemie şi icter. Evoluţia poate fi rapidă spre şoc. Impune tratament substitutiv de urgenţă.

V. Diagnostic

Anamneza : originea mediteraneeană, africană, asiatică, antecedentele de episoade anemice asociind icter, depistarea unui context declanşator (medicamente, infecţii).

Clinic : fără elemente caracteristice – asocierea sindromului anemic, icteric +/- splenomegalie

Examene paraclinice : prezenţa corpilor Heinz, dozajul cantitativ al G-6-PD.

Diagnosticul diferenţial impune eliminarea unor hemolize extracorpusculare sau alte hemolize corpusculare ereditare (alte enzimopatii, hemoglobinopatii, anomalii membranare).

VI. Tratament

Posibilităţile terapeutice sunt reduse. Ele impun o atitudine profilactică şi una simptomatică.

- Pentru pacienţii cu deficit în G-6-PD, se impune evitarea administrării medicamentelor cu risc oxidant, ingestia de bob, evitarea sau limitarea episoadelor infecţioase.
- Pentru pacienţii în episod hemolitic acut, se impune transfuzia de masă eritrocitară pentru redresarea rapidă a valorilor hemoglobinei.
- Pentru pacienţii cu hemoliză cronică : în copilărie se indică exanguino-transfuzia (în prezenţa riscului de icter nuclear), ulterior transfuziile se recomandă în funcţie de severitatea hemolizei. Se recomandă şi în caz de crize aplastice. Splenectomia poate fi uneori utilă la aceşti pacienţi.
- La pacienţii nou diagnosticaţi fără antecedente sugestive, se impune realizarea unei anchete familiale pentru depistarea altor cazuri.

3. ANOMALII ALE ENZIMELOR GLICOLIZEI ANAEROBE (CICLUL EMBDEN MAYERHOF)

- deficitul uneia din enzimele implicate în ciclul Embden-Mayerhof va antrena dereglarea glicolizei, cu scăderea producţiei de ATP şi acumularea de produşi intermediari ai glicolizei. Consecinţa va fi alterarea membranei eritrocitare cu distrucţie eritrocitară.

- majoritatea anomaliilor enzimatice glicolitice au o transmisie autozomal recesivă
- heterozigoţii sunt asimptomatici şi fără anemie hemolitică
- boala se manifestă la homozigoţi, dar majoritatea cazurilor manifestate prin hemoliză survin la subiecţi dublu heterozigoţi, cu anomalii pe două variante enzimatice diferite
- manifestările clinice sunt reprezentate de : anemie cronică cu reticulocitoză şi sindrom icteric.

DEFICITUL IN PIRUVAT KINAZA (PK)

- reprezintă cea mai frecventă enzimopatie de pe calea EM, incidenţa sa apropiindu-se de cea a deficitului în G6PD variantele de clasa I
- majoritatea cazurilor publicate provin din nordul Europei, SUA şi Japonia
- PK catalizează conversia fosfoenolpiruvatului în piruvat cu producerea de ATP. Reprezintă una dintre cele două reacţii glicolitice producătoare de ATP. În acelaşi timp, este o reacţie critică pentru întreg ciclul.

I. Etiopatogenie

- în majoritatea cazurilor, deficitul în PK este sever, dar incomplet
- deoarece reacţia catalizată este critică, iar PK o enzimă "limitantă", deficitul în PK va conduce la blocarea glicolizei cu câteva consecinţe :
  - scăderea producţiei de ATP → deficit energetic cu alterarea funcţiei pompei ionice, cu alterarea echilibrului ionic : creşterea calciului membranar, creşterea pierderii de potasiu, scăderea concentraţiei celulare în cationic monovalenţi cu deshidratare eritrocitară, pierderea plasticităţii cu rigidizare celulară şi distrucţie prematură;
  - acumularea produşilor glicolitici parţiali, premergători blocului enzimatic;
  - acumularea de 2,3-DPG → deplasarea la dreapta a curbei de disociere a oxigenului → scăderea afinităţii hemoglobinei pentru oxigen, cu cedarea mai uşoară a acestuia în ţesuturi → toleranţă mai mare la eforturi în raport cu gradul de anemie.

II. Clinică

Manifestarea deficitului în PK îmbracă aspecte variate, de la forme asimptomatice la hemolize severe.

➢ Nou născut – poate surveni icterul neo-natal, cu severitate ce poate antrena complicaţia de icter nuclear, ceea ce impune intervenţia rapidă cu exanguinotransfuzie.

➢ Copil – asociază anemie, icter şi splenomegalie (mai frecvent decât în deficitul în G6PD). Există o formă severă care antrenează deces după 3-4 ani de viaţă în absenţa splenectomiei.

➢ Adolescent, adult – anemie variabilă, asociind splenomegalie. Se remarcă buna toleranţă la efort comparabil cu nivelul anemiei. Evoluţia poate fi complicată de crize aplastice (în infecţia cu parvovirus), apariţia litiazei veziculare pigmentare, ulcere cronice de gambă.

III. Biologie

- anemie variabilă de la moderată la severă
- anomalii morfologice eritrocitare, semn de eritropoiezã accelerată, dar nespecifice – policromatoză, anizocitoză, poikilocitoză, prezenţa de precursori eritrocitari nucleaţi, poikilocite, acantocite
- reticulocitoză – 5-15% putând creşte la 70% după splenectomie
- biochimia eritrocitară - scăderea concentaţiei de ATP şi creşterea 2,3-DPG eritrocitar.
- teste de determinare a nivelului de PK eritrocitar – sunt teste calitative pentru screening şi teste cantitative care permit stabilirea diagnosticului. Atenţie, se vor elimina leucocitele care conţin cantităţi mari de PK-M2 (care nu este influenţată de anomaliile din gena PKLR), putând da rezultate fals negative.

IV. Diagnostic

➢ Diagnosticul pozitiv se face pe baza antecedentelor (cazuri în familie, debut în copilărie al unei anemii hemolitice cronice, noţiunea de icter neo-natal), examenului clinic (anemie, icter, splenomegalie), biologic (anemie hemolitică fără particularităţi, dozajul enzimatic).

➢ Diagnosticul diferenţial impune eliminarea sferocitozei congenitale, a altor enzimopatii şi a diferitelor hemoglobinopatii.

V. Tratament

Nu există tratament specific pentru rezolvarea deficitului în PK.

➢ Splenectomia – poate antrena o ameliorare clinico-biologică datorată prelungirii duratei de supravieţuire a hematiilor cu anomalii care sunt distruse în splină. Este mai eficace decât în deficitul de G6PD.

➢ Transfuziile – sunt indicate în puseele hemolitice şi în crizele aplastice. Se impun în urgenţă, în caz de icter neo-natal.

➢ Acidul folic – este un tratament util, dat fiind efortul regenerativ al măduvei. Poate preveni crizele megaloblastice.

➢ Transplantul medular – poate fi un tratament cu potenţial curative, dar raportul risc-beneficiu este net în defavoarea beneficiului.

ANEMII HEMOLITICE CU HEMOGLOBINOPATII (TALASSEMII ŞI HEMOGLOBINOPATII)

GENERALITĂŢI

- hemoglobinopatiile sunt responsabile de marea majoritate a anemiilor hemolitice corpusculare ereditare
- reprezintă o importantă problemă de sănătate publică în anumite regiuni ale globului
- reprezintă cele mai frecvente boli ereditare

- hemoglobinopatiile se împart în două mari grupe de boli datorate anomaliilor de la nivelul hemoglobinei :

➢ anomalii ale sintezei lanţurilor de globină care cuprind :

- sindroamele talasemice : α-talasemiile (prin deficit de sinteză a lanţurilor α) şi β-talasemiile (prin deficit de sinteză a lanţurilor β)
- persistenţa hemoglobinei fetale

➢ anomalii ale structurii proteice a hemoglobinei conducând la hemoglobine instabile, cu afinitate crescută pentru oxigen sau cu tendinţa la formarea de met- sau sulhemoglobină.

- mecanismele moleculare responsabile de aceste anomalii sunt variabile şi conduc la o varietate mare de manifestări clinice :

- anemii hemolitice cu fenomene obstructive în microcirculaţie (sdr drepanocitare)
- anemii cu diseritropoiezã majoră (β-talasemiile)
- anemii hemolitice cu incluzii eritrocitare (hemoglobine instabile, α-talasemiile)
- anemie, poliglobulie sau cianoză (hemoglobine cu afinitate crescută pentru oxigen sau cu tendinţa la formarea de met- sau sulhemoglobină)

1. SINDROAMELE TALASSEMICE

GENERALITĂŢI

- talassemiile reprezintă un grup heterogen de boli moştenite care rezultă din mutaţiile survenite la nivelul genelor codante ale lanţurilor de globină, având drept consecinţă reducerea sau încetera completă a sintezei unuia sau mai multor lanţuri de globină.
- se manifestă, la nivel hematologic, prin microcitoză, hipocromie, iar, în cazuri severe, prin anemie. Au fost descrise mai multe tipuri de talassemie :

➢ ***talassemia alfa*** – se datorează sintezei reduse sau absente a lanţurilor de α-globină

➢ ***talassemia beta*** - se datorează sintezei reduse sau absente a lanţurilor de β-globină

➢ ***talassemia delta-beta*** - se datorează sintezei reduse sau absente a lanţurilor de β-globină şi de δ-globină.

➢ ***persistenţa ereditară a hemoglobinei fetale*** - în care sinteza crescută de HbF persistă şi în cursul vieţii adulte.

EPIDEMIOLOGIE

- talassemia este considerată cea mai frecventă boală ereditară, cu răspândire mondială
- incidenţa maximă este semnalată pe o zonă care se extinde din bazinul mediteraneean, trecând prin Orientul Mijlociu şi ajungând până în Asia de Sud-Est
- talassemia-alfa are cea mai mare prevalenţă la populaţia din Asia de Sud-Est şi la cea descendentă din Africa de Vest. Se semnalează incidenţă mare la populaţia din Tailanda (5-10%) şi din China (7%)
- genele beta-talassemice au o răspândire mai largă. Prevalenţa este de aproximativ 3% din populaţia globului (150 $x10^6$). Prevalenţă mult crescută se semnalează în bazinul

mediteraneean, la populaţia din Italia şi Grecia (10-30% în Sardinia, 10% în Sicilia, 10-15% în Grecia, mai rar în Africa de Nord). Se semnalează prezenţa în Turcia, Iran, Siria.

MECANISM GENETIC

- studiile de genetică şi biologie moleculară au permis identificarea anomaliilor genetice care conduc la afectarea genelor lanţurilor de globină şi care duc la scăderea sau încetarea sintezei acestora.

❖ α **Talassemia**

Gena lanţului de globină α este duplicată : pe fiecare cromozom 16 sunt două gene, α1 şi α2. Pe cei doi cromozomi 16 sunt 4 gene (2 perechi de două gene). Astfel, fenotipul normal poate fi scris (α1α2)(α1α2) sau mai simplu (αα)(αα).

Pentru genele de α Talassemia sunt recunoscute două fenotipuri :

- α^0 Talassemia – rezultă din deleţia care implică ambele gene alfa (perechea de pe ambii cromozomi). Haplotipul poate fi simbolizat ca (--).
- α^+ Talasemia – rezultă din deleţia uneia din cele două gene (-α) sau alte mutaţii nondeleţie care afectează una din genele alfa, ducând la limitarea expresiei genei alfa cu reducerea sintezei lanţului respectiv ($\alpha\alpha^T$).

❖ β **Talassemia**

β Talassemiile, ca şi precedentele, rezultă din mutaţii care determină diminuarea producţiei de mARN cu scăderea sintezei de lanţuri normale de globină. Spre deosebire de α Talassemii, majoritatea β Talassemiilor apar ca urmare mai degrabă a mutaţiilor afectând genele reglatoare sau expresia genei β, decât deleţiei acesteia.

Prin analiza cazurilor de β talassemie homozigote, au fost descrise două tipuri :

- β^+ talassemia - în care persistă lanţuri β reziduale
- β^0 talasemia - în care nu se mai produce nici un lanţ β

Pe cromozomul 11, gena pentru lanţul β nu este duplicată, deci pe cei doi cromozomi 11 sunt două gene allele. În starea heterozigotă, o singură allelă este afectată, iar pacienţii sunt asimptomatici. Când ambele allele sunt anormale (mutante) este definită starea homozigotă. O mare parte din pacienţii aşa-zişi homozigoţi sunt, în realitate, dublu heterozigoţi, fiecare allelă având altă mutaţie. Adevăraţii homozigoţi sunt foarte rari, în arii restrânse şi populaţii izolate cu endogamie.

❖ δβ **Talassemia**

Această boală se caracterizează prin reducerea sau absenţa completă a sintezei celor două tipuri de lanţuri de globină. În locul lor se produc lanţuri γ. Producţia este în exces, dar nu compensează complet deficitul celorlalte două. Totuşi nu se ajunge la un dezechilibru major. Nivelul de HbF este superior celui din β talassemie, ajungând la 100% la homozigoţi.

❖ γδβ **Talassemia**

Este o formă rară, în care este deletat sau inactivat întregul complex de gene tip β. Se caracterizează prin anemie hemolitică neo-natală severă, care evoluează treptat spre o β talassemie minor.

❖ **Persistenţa ereditară a hemoglobinei fetale**

Ca şi în δβ talassemie, sinteza lanţurilor δ şi β este scăzută sau absent, dar sinteza lanţurilor γ este suficient de importantă pentru a echilibra sinteza de lanţuri α şi de a împiedica apariţia anomaliilor clinico-hematologice semnificative.

FIZIOPATOLOGIE

- deficitul parţial sau complet în sinteza unuia sau mai multor lanţuri de globină va determina două consecinţe majore :

➢ scăderea sintezei de hemoglobină care va antrena hipocromie şi eritrocitoză la heterozigoţi, modificări fără consecinţe clinice majore

➢ dezechilibru în producţia de lanţuri αşi β – reprezintă consecinţa majoră. Lanţurile care sunt sintetizate normal vor fi în exces faţă de cele deficitare. Lanţurile necombinate vor precipita în citoplasmă şi vor forma agregate care alterează membrana eritrocitară cu distrucţie prematură şi reducere a supravieţuirii

- deficit în sinteza lanţurilor α➔ acumulare de lanţuri γ (în perioada fetală şi neo-natală) sau de lanţuri β (post-natal) libere. Tetramerii de lanţuri γ (Hb Bart) sau de lanţuri β (Hb H) sunt *instabili şi termolabili.* Au afinitate crescută pentru oxigen, cedându-l foarte greu în ţesuturi. Au tendinţă la oxidare rapidă şi la precipitare, odată cu îmbătrânirea hematiei. Formarea agregatelor este minimă în celulele tinere, astfel, distrucţa intramedulară este redusă, hematopoieza ineficientă fiind mai puţin manifestă.
- deficit în sinteza lanţurilor β, mai ales în forma homozigotă ➔ acumularea de lanţuri α caracterizate printr-o mare instabilitate ➔ agregare ➔ incluziuni insolubile încă din precursorii eritroizi. Incluziunile vor afecta membrana şi citoscheletul, antrenând distrucţia a peste 70% din celulele precursoare cu hematopoieză ineficientă. Datorită distrucţiei intramedulare a celulelor precursoare, în periferie ajung predominant hematiile cu un raport β/α mai crescut care nu reflectă severitatea reală a bolii.
- agregatele de lanţuri în exces se fixează pe membrana celulară determinând alterări structurale şi funcţionale. Acestea sunt mai severe în β talassemie. Hematiile talassemice au o susceptibilitate mai mare la oxidare.
- în ansamblu, rezultă o scădere a duratei de supravieţuire a hematiilor. Ca răspuns la aceasta, măduva va încerca să compenseze pierderile prin creşterea eritropoiezei de până la zece ori nivelul de bază (în formele majore). Consecinţa va fi expansiunea ţesutului eritroid medular cu creşterea cavităţilor medulare şi subţierea corticalei osoase. Ceea ce va antrena riscul fracturilor la traumatisme mai mici. Rar, ţesutul eritroid poate părăsi osul şi forma masei tumorale extramedulare (şanţurile paravertebrale, splina, ficatul cu organomegalie).

SINDROAME CLINICO-BIOLOGICE

a. α Talassemii

Patru sindroame au fost recunoscute :

❖ ***Hidrops fetal cu Hb Bart***

- rezultă în urma absenţei celor patru gene ale lanţurilor α (--)(--), situaţie incompatibilă cu viaţa;
- nou-născutul, atunci când nu s-a născut deja mort, prezintă hidrops cu edem prin acumularea de fluide în ţesuturile fetale ca urmare a anemiei severe;
- predomină Hb Bart (γ4) asociind 5-20% Hb Portland şi urme de HbH. Hb Bart are o mare afinitate pentru oxigen, fiind inutilă în transportul acesteia;
- fătul supravieţuieşte până în trimestrul trei datorită prezenţei Hb Portland, dar, ulterior, aceasta nu mai face faţă necesităţilor, ducând la anoxie majoră. Rezultă decesul *in utero* sau naşterea prematură cu deces rapid prin insuficienţă cardiorespiratorie;
- la naştere se constată edem placentar, cardiomegalie, hepatosplenomegalie majoră (hematopoieză extramedulară). Hemograma evidenţiază anemie severă, microcitară, hipocromă, cu prezenţa de precursori eritrocitari circulanţi. Electroforeza hemoglobinei va permite diagnosticul. Acesta poate fi făcut şi *in utero*, mai ales la pacienţi cu *forma minor*.

❖ ***Boala Hb H***

- boala survine la cei care prezintă doar o singură genă producătoare de lanţuri α
- boala survine predominant în Asia de Sud-Est, zona mediteraneeană şi la descendenţii populaţiei din Africa de Vest
- tabloul clinic este acela al unei talassemii intermedia cu variaţii în ceea ce priveşte severitatea. Nou-născuţii sunt aparent normali, pentru ca boala să devină simptomatică la sfârşitul primului an de viaţă, prin anemie şi splenomegalie, şi, treptat, sindromul icteric (hemoliza cronică) şi hepatosplenomegalia să devină importante. Aproximativ 30% din pacienţi au modificări scheletale. Rar survine retardul mental. Transfuziile devin necesare doar în caz de afecţiuni intercurente care agravează raportul dintre aport şi necesarul de oxigen.
- biologic se evidenţiază anemie moderată cu reticulocitoza de 5-10%. Frotiul sanguin evidenţiază microcitoză, hipocromie, celule în ţintă, hematii cu anomalii de formă. Incubarea hematiilor cu 0,5 ml albastru de crezyl la temperatura camerei determină precipitarea HbH care apare sub forma unor incluziuni muliple în hematii.
- diagnosticul este confirmat de electroforeza hemoglobinei. La naştere, 20-40% din Hb este de tip Bart, fiind înlocuită treptat de HbH care creşte până la o proporţie de 30-40%.

❖ ***Alfa-talassemia minor***

- formă întâlnită la indivizi provenind din Asia, zona mediteraneeană
- rezultă din persistenţa a două gene active din patru
- este o formă uşoară
- hemoglobina este în limite normale sau discret scăzută
- frotiul sanguin evidenţiază microcitoză, hipocromie, anizopoikilocitoză discretă

- diagnosticul este mai uşor de făcut în perioada neo-natală, când se poate evidenţia şi cuantifica Hb Bart. Ulterior, el este sugerat de prezenţa unei anemii microcitare în context de rezerve marţiale corecte, fără creşterea HbA_2 sau HbF.

❖ ***Purtătorul asimptomatic***

- se datorează deleţiei unei singure gene alfa din cele 4. Starea nu este definită de nici o modificare clinică sau hematologică şi este pusă în evidenţă doar prin studii asupra membrilor familiilor celor cu alfa talassemie cunoscută.

b. β Talassemii

În funcţie de severitatea bolii, au fost descrise patru tipuri de sindroame :

❖ ***β Talassemia major (Anemia Cooley)***

- forma majoră apare în starea homozigotă (β^0/β^0) sau (β^+/β^+) tipul mediteraneean sau dublu heterozigotă (β^0/β^+)
- la naştere, boala este asimptomatică
- anemia survine din săptămâna a 6-a de viaţă, iar splenomegalia din a 8-a
- la pacienţii netransfuzaţi, activatatea hematopoietică compensatorie este intensă, afectând metabolismul osos ➔ creşterea rezorbţiei osoase, scăderea mineralizării, scăderea numărului de nuclee osteoformatoare ➔ osteopenie ➔ creşterea spaţiilor medulare în detrimentul corticalei determinând creşterea fragilităţii osoase cu risc de fractură pe os patologic şi anomalii osoase :
  - creşterea pometilor, creşterea accentuată a maxilarelor cu malocluzie şi tulburări de implantare a dinţilor
  - fruntea apare înaltă, bombată, iar radiologic aspectul tipic de margine în perie
  - coastele sunt late, oasele lungi au corticala subţiată
- apar multiple complicaţii :
  - complicaţii endocrine : întârzieri în creştere cu retard statural şi întârzierea instalării pubertăţii (deficit de somatomedină, insuficienţă de maturare hipotalamică), hipoparatiroidism, diabet zaharat;
  - complicaţii ale metabolismului marţial - hemocromatoză secundară cu implicare multiorganică;
  - complicaţii cardiace – pericardită, insuficienţă cardiacă, aritmii, reducerea fracţiei de ejecţie;
  - complicaţii pulmonare – sindrom de obstrucţie a căilor respiratorii mici sau modificări de tip restrictiv;
  - complicaţii hepatobiliare – hepatomegalie datorată hematopoiezei extramedulare şi depunerilor de fier în celulele Kupffer şi hepatocite. În context de hemoliză cronică şi transfuzii repetate, creşte incidenţa litiazei veziculare.

Biologic se constată :

- anemie severă hipocromă microcitară asociind anizocitoză, poikilocitoză, prezenţa de hematii în ţintă, numeroase incluziuni bazofilice, prezenţa de eritroblaşti hipocromi în sângele periferic;

- reticulocitoză 5-15% (sub nivelul corespunzător gradului de anemie datorită hematopoiezei ineficiente);
- leucocitoză, trombocitele în limite normale;
- rezistența osmotică este crescută;
- măduva osoasă este hipercelulară cu hiperplazia liniei eritrocitare;
- hiperbilirubinemie totală pe baza bilirubinei indirecte (neconjugate).

Supraviețuirea este scurtată. În absența transfuziilor, evoluția este marcată de infecții recurente, caşexie, deces în primii ani de viață. Cu tratament substitutiv, transfuzional asociat cu cel chelator de fier, supraviețuirea poate fi prelungită peste 30 ani.

❖ ***β Talassemia intermedia***

Această formă este, ca severitate, între forma majoră şi cea minoră. Ea este produsă de numeroase genotipuri având la bază status heterozigot sau dublu heterozigot al unor allele ale genelor de β Talassemia.

Tabloul este dominat de anemia hemolitică cronică, dar necesarul transfuzional este mult redus, creşterea şi dezvoltarea pubertară sunt puțin afectate, fertilitatea este menținută.

Examenul clinic evidențiază : paloare, episoade icterice, splenomegalie, modificări osoase faciale.

Biologic

- anemie moderată (6-9 g/dl) cu anizocitoză, hipocromie, microcitoză, prezența a numeroase hematii în țintă, incluzii bazofile, precursori eritrocitari în sânge;
- măduvă osoasă hiperplazică cu hiperplazie eritrocitară;
- electroforeza hemoglobinei – sugestivă.

Supraviețuirea este puțin afectată. Evoluția este marcată de complicații ca fracturi pe os patologic, litiază veziculară (+/-colecistită), hematopoieză extramedulară cu hepato-splenomegalie, mase mediastinale, hemocromatoză cu implicare cardiacă şi respiratorie.

❖ ***β Talassemia minor***

Formă uşoară produsă de genotipuri rezultante din status-ul heterozigot.

Boala este relativ asimptomatică, descoperirea fiind fortuită, ocazionată de alte patologii. Rar apar icter, splenomegalie, ulcere de gambă, modificări radiologice. Adesea sindromul anemic este interpretat ca fiind feripriv, administrându-se tratament marțial.

Biologic :

- anemie uşoară sau absentă;
- eritrocitoză cu microcitoză şi hipocromie, anizocitoză, poikilocitoză, hematii în țintă;
- reticulocitoză discretă;
- rezistența osmotică a hematiilor uşor crescută;
- bilirubina indirectă uşor crescută.

❖ ***β Talassemia minima***

Este o formă silențioasă neidentificabilă prin examenul clinic şi investigațiile hematologice standard. Ea trebuie căutată la rudele pacienților cu forme manifeste. Diagnosticul de

certitudine poate fi făcut numai prin studii ale lanțurilor de globină cu evidențierea unui raport α/β de 1,3.

c. Persistența ereditară a hemoglobinei fetale

Se caracterizează prin persistența sintezei hemoglobinei fetale şi în viața adultă. Se asociază o reducere a producției de hemoglobină şi un dezechilibru de sinteză a lanțurilor α/non-α, dar lanțul δ este sintetizat în cantitate suficientă pentru a acoperi sinteza de lanțuri α şi a preveni, astfel, consecințe clinice semnificative.

DIAGNOSTIC

Diagnosticul corect al unei talassemii presupune câteva etape :

- diagnosticul pozitiv în paralel cu eliminarea altor tipuri de anemii care au un tablou similar
- clasificarea talassemiei în funcție de tipul de lanț deficitar
- clasificarea în funcție de severitate
- studiile familiale
- precizarea genotipului

Un rol important în diagnostic îl are şi electroforeza hemoglobinei. Tabelul evidențiază rezultatele acesteia în cadrul diferitelor tipuri de talassemii.

Diagnosticul formelor majore, mai ales prin debutul precoce şi manifestările majore, nu pune probleme deosebite. Probleme de diagnostic pot ridica formele minore.

Tabel **14**

ELECTROFOREZA HB ÎN TALASSEMII			
Tipul de boală	**Hb A (%)**	**Hb A_2 (%)**	**Hb F (%)**
β-talassemia minor	93	6	1-5
β-talassemia major	0	2-10	90-98
β-talassemia intermedia	55-75	2-5	20-40
δβ-talassemia	93	2-3	5-10
α-talassemia minor	97	3	<1
Persistența ereditară a Hb F	0-30		70-100

α Talassemia minor

În perioada post-natală, diagnosticul este sugerat de microcitoză şi confirmat de electroforeza hemoglobinei care arată o creştere a Hb Bart.

În perioada ulterioară, diagnosticul este sugerat de eritrocitoză cu microcitoză şi hipocromie, prezența hematiilor în țintă. Diagnosticul este confirmat de electroforeza hemoglobinei şi de evidențierea prezenței incluziilor de HbH în eritrocite folosind albastrul de crezil. Spre deosebire de β talassemii, anomaliile morfologice sunt mai puțin evidente şi

incluziile bazofile mai rare. Confirmarea definitivă este făcută de demonstrarea scăderii ratei de sinteză.

β Talassemia minor

Diagnosticul este sugerat la pacienţi cu anemie hipocromă, microcitară, asociind intensă anizocitoză, poikilocitoză, prezenţa de hematii în ţintă, incluzii bazofile. Electroforeza hemoglobinei arată valori crescute ale HbA2 sau HbF.

Adesea, cazurile sunt confundate cu o anemie feriprivă, dar sideremia, capacitatea de fixare a fierului şi feritina sunt normale. Anomaliile morfologice de tip hematii în ţintă şi incluzii bazofile apar rar în anemia feriprivă. Pentru diferenţiere, se poate folosi indicele mentzer = VEM/GR. Dacă este sub 13, diagnosticul înclină spre deficitul marţial, peste 13, se sugerează talassemia beta.

TRATAMENT

Dată fiind severitatea formelor majore, se impune profilaxia prin diagnosticul ante-natal. Strategia terapeutică a pacienţilor cu talassemie forme majore şi intermediare cuprinde :

Terapia transfuzională

- formele severe cu Hb sub 7 g/dl necesită transfuzii repetate şi sistematice pentru a asigura dezvoltarea normală (copil, adolescent) şi desfăşurarea unei activităţi normale;
- transfuziile trebuie începute când Hb scade sub 7 g/dl;
- scopul transfuziilor este de a menţine Hb la peste 10 g/dl. Aceasta asigură o bună calitate a vieţii si previne apariţia complicaţiilor amintite.
- deoarece pacientul este transfuzat în mod cronic, se recomandă determinarea fenotipului complet al grupelor eritrocitare şi folosirea de sânge compatibil fenotipic pentru a evita apariţia isoimunizărilor pentru grupe minore, cu reducerea eficacităţii transfuzionale.

Splenectomia

- splenomegalia creşte progresiv cu efecte negative : creşterea volumului sanguin cu hemodiluţie, captarea splenică a eritrocitelor cu scurtarea duratei de supravieţuire, accelerarea încărcării marţiale, captarea celorlalte tipuri de celule cu pancitopenie;
- indicaţia principală o reprezintă creşterea dramatică a necesarului transfuzional;
- se va amâna până la adolescenţă, dat fiind riscul infecţios major la cei splenectomizaţi ;
- se recomandă vaccinarea antipneumococică pre-operator.

Tratamentul chelator de fier

- hemocromatoza secundară cu complicaţiile sale constituie o cauză majoră de deces la aceşti pacienţi. La o încărcare globală de 40 g, apar disfuncţiile organice, în timp ce la 60 g, se instalează insuficienţa cardiacă refractară.
- se recomandă tratament chelator cu Desferal care trebuie început precoce, din prima decadă de viaţă
- medicamentul poate fi administrat intravenos, intramuscular, subcutanat. Cea mai performantă modalitate de administrare este perfuzia continuă la doze de 1,5 – 4 g/24 ore, dar

facilitatea impune administrarea subcutană *într-un interval* de 8-12 ore, noaptea, pentru a permite continuarea activităţilor.

- se recomandă începerea tratamentului după 10-30 transfuzii sau atunci când feritina depăşeşte 1.000 ng/ml.
- dozele utilizate sunt în funcţie de vârstă : de 20-30 mg/kg înainte de 3 ani şi de 40-50 mg/kg/zi după trei ani. Dozele mai mari asociază neurotoxicitate.
- se află în studiu chelatori cu administrare orală, unul fiind Deferipron.

Transplantul medular

- transplantul medular allogenic de la rude cu compatibilitate completă poate fi indicat, cu şanse bune de răspuns la pacienţii tineri sub 16 ani şi fără factori de risc
- tratamentul se află în studiu

Tratamente noi

- 5-Azacitidina (5-AZA) este un analog al citidinei care, incorporat în ADN-ul nou sintetizat, determină demetilare extinsă. Acest fenomen ar permite reactivarea genelor de globină gamma. Administrat în beta talasemie şi drepanocitoză, determină creşterea sintezei lanţurilor gamma de 7-10 ori, antrenând reticulocitoză şi creşterea Hb.
- Terapia genică constă în introducerea, cu ajutorul unui vector, a echivalentului normal al genei deficitare în celula corespunzătoare, cu reluarea activităţii normale a genei respective. Este în studiu. Vectorul rămâne o problemă a fi rezolvată.

Tratament adjuvant

- asocierea de acid folic în timpul sarcinilor, a infecţiilor intercurente
- prevenirea şi tratarea promptă a oricărui episod infecţios
- chirurgie operatorie la cei cu anomalii faciale, mai ales în domeniul stomatologic
- tratament hormonal asociat în caz de insuficienţă glandulară secundară hemocromatozei
- vaccinarea *anti-hepatită B înainte* de a demara programul transfuzional.

2. ANOMALII STRUCTURALE ALE HEMOGLOBINEI DREPANOCITOZA (ANEMIA FALCIFORMĂ)

GENERALITĂŢI

Drepanocitoza, boală genetică cu transmisie autosomal recesivă, afectează predominant populaţia neagră din Africa Centrală şi de Vest, din Caraïbe şi, în mai mică măsură, populaţiile din Arabia Saudită, India, bazinul mediteraneean şi America de Nord.

ETIOPATOGENIE

Anemia falciformă este o hemoglobinopatie severă, datorată unei mutaţii punctuale în codonul 6 (GAG --> GTG) al genei lanţului beta al hemoglobinei. Această mutaţie va antrena o anomalie calitativă a sintezei de hemoglobină : substituţia în poziţia 6 a lanţului beta al acidului glutamic prin valină (HbS – $\alpha_2\beta_2^S$). Starea homozigotă determină forma manifestă,

anemia falciformă sau drepanocitoza. Starea heterozigotă determină starea de purtător, cel mai adesea fără răsunet clinic sau hematologic.

Elementul central al schemei fiziopatologice care permite explicarea trepiedului clinic al drepanocitozei (durere, anemie, infecţie) este reprezentată de solubilitatea mult mai redusă a HbS, în forma deoxi-, faţă de HbA. Deoxi-HbS are tendinţa de a polimeriza cu formarea de lungi fibre helicoidale.

În contextul unei concentraţii celulare crescute în HbS şi în prezenţa factorilor favorizanţi ai stării deoxi- (scăderea PaO_2, scăderea pH, scăderea apei eritrocitare în condiţii de hiperosmolaritate plasmatică, creşterea CHEM, a temperaturii şi a 2,3-DPG), HbS polimerizează, antrenând alterarea morfologică şi funcţională a eritrocitului (siclizare). Fibrele polimerice se dispun în mănunchiuri paralele, distorsionând eritrocitul care ia formă de seceră. Drepanocitele sunt deshidratate, mai rigide şi mai vâscoase, cu tendinţă de aderenţă la pereţii vasculari, ceea ce antrenează o alterare a reologiei în microcirculaţie.

Modificările sunt iniţial reversibile, pentru că polimerii se "topesc" (desiclizare) în condiţii de oxigenare şi corectare a factorilor mai sus menţionaţi. Procesul de siclizare antrenează şi modificări reversibile la nivelul membranei eritrocitare. Jocul repetat siclizare-desiclizare antrenează, în timp, modificări ireversibile asupra eritrocitelor, cu alterarea duratei de supravieţuire.

Procesul de siclizare antrenează două consecinţe majore :

➢ fragilitatea eritrocitară cu hemoliză şi anemie. Hemoliza poate fi :

- intravasculară - prin pierderea hemoglobinei în cursul procesului de siclizare cu fragmentare membranară
- extravasculară - prin captarea şi fagocitarea de către monocite/macrofage a eritrocitelor cu alterări membranare secundare siclizării/desiclzării şi prin blocarea în microcirculaţie a eritrocitelor deformate şi rigide ;

➢ tulburări în microcirculaţie cu fenomene vaso-ocluzive ce antrenează ischemie sau chiar infarct în teritoriile irigate de vasele respective. Constituie cauza manifestărilor centrale ale bolii – crizele dureroase vaso-ocluzive. Repetarea în timp a evenimentelor conduce la instalarea unor leziuni organice ireversibile, responsabile de complicaţiile cronice ale bolii.

MANIFESTĂRI CLINICE

Debutul clinic al bolii se situează, adesea, în a doua jumătate a primului an de viaţă. Latenţa în instalarea manifestărilor se datorează persistenţei în perioada post-natală imediată a sintezei de HbF în cantitate suficientă pentru a compensa prezenţa HbS. Manifestările apar secvenţial:

- anemia hemolitică este depistată după a 10-12-a săptămână
- splenomegalia devine palpabilă după vârsta de 6 luni
- crizele vaso-ocluzive survin între 6 şi 12 luni.

Manifestările clinice se datorează predominant fenomenelor vasculare şi mai puţin anemiei. Manifestările pot îmbrăca un aspect acut, episodic sau cronic, progresiv.

a) Manifestările acute

Crizele vaso-ocluzive

- reprezintă cea mai frecventă formă de morbiditate;
- se datorează obstrucţiei vaselor mici de către eritrocitele siclizate, rigide şi nedeformabile, antrenând hipoxie în teritoriul corespunzător, până la infarcte;
- se manifestă prin dureri, asociind sau nu febră, tahicardie, leucocitoză;
- crizele sunt favorizate de infecţii, febră, temperaturi scăzute, dezhidratare, sarcină, intervenţii chirurgicale, stress psihic.
- manifestări :

• *Sindromul mână-picior (dactilită)* - edematierea dureroasă a feţei dorsale a mâinilor şi picioarelor, febră şi tahicardie. Mai frecvent la copil, cu durata de 1-2 săptămâni. Examenul radiologic arată edematierea ţesuturilor moi şi subţierea corticalei cu distrucţii ale metacarpienelor, metatarsienelor şi falangelor.

• *Crize dureroase osoase* - extremităţi (humerus, femur, tibie), vertebre, coaste, structuri periarticulare (poate mima o artrită inflamatorie). Se datorează infarctelor din măduva osoasă. Uneori poate determina necroza aseptică a capului femural.

• *Crize dureroase abdominale* - prin microinfarcte în circulaţia mezenterică şi viscerele abdominale. Pot mima un abdomen acut.

• *Afectarea SNC* - accidentele cerebrovasculare cu hemipareză, afazie, deficite senzoriale, alterări ale stării de conştienţă. Rezoluţia manifestărilor poate fi completă sau incompletă.

• *Sindromul toracic acut* - febră, tahipnee, tahicardie, dureri toracice, anemie, leucocitoză şi trombocitoză. Radiologic, se evidenţiază infiltrate pulmonare +/- pleurale. Cauza este reprezentată de infecţii la copil şi infarcte la adult, dar cele două elemente pot coexista, influenţându-se reciproc. Ocluzia vaselor pulmonare mari, ca şi embolia cu particule grăsoase pornite din infarctele medulare constituie o cauză de mortalitate la aceşti pacienţi.

• *Priapismul.* Survine bimodal, între 5-13 ani şi 21-29 ani. Prognosticul este rezervat.

Crizele hematologice – se caracterizează prin agravarea brutală a anemiei necorelate cu crizele vaso-ocluzive.

• *Crizele aplastice sau eritroblastopenia.* Sunt adesea precedate sau asociate cu boli febrile. Formele moderate sunt datorate unor infecţii cu streptococ, salmonele sau mycoplasme, în timp ce formele grave sunt induse de către parvovirus, tulpina B19. Se manifestă prin scăderea valorilor Hb, Ht şi mai ales reticulocitelor. Criza are caracter autolimitant, cu durată de 5-10 zile.

• *Crizele de sechestrare splenică* - survin mai ales la copii între 6 luni şi doi ani cu ţesut splenic încă funcţional. Antrenează o sechestrare a reticulocitelor cu o creştere rapidă de volum a splinei şi o hipovolemie brutală putând evolua rapid spre şoc hipovolemic.

• *Crizele hemolitice* – se datorează unui hipersplenism acut, hemolize imunologice (aglutinine la rece), mecanice (pe o proteză valvulară), infecţioase (pneumopatie cu mycoplasmă) sau asocierii unui deficit în glucoză-6-fosfat-dehidrogenază (G6PD).

• *Crizele megaloblastice* - datorate deficitului absolut (deficit alimentar, alcoolism) sau relativ (perioadă de creştere rapidă, sarcină) în folaţi.

• *Accidentele hemoragice* - interne sau exteriorizate nu sunt foarte rare.

b) Manifestările cronice

• *Tulburări de creştere.* Dezvoltarea staturo-ponderală a copiilor cu drepanocitoză este întârziată cu aproximativ doi ani relativ la subiecţii normali. Pubertatea este de asemenea întârziată.

• *Sistemul osteo-articular.* Datorită efectului cumulativ al episoadelor repetitive de ischemie sau infarct în spongioasa oaselor, rezultă distrucţii cronice şi progresive la nivelul oaselor şi articulaţiilor. Exemplu : necroza aseptică a capului femural şi/sau humeral, distrucţia porţiunii centrale a vertebrelor cu deformare (în " gură de peşte"), artritele aseptice sau infecţioase.

• *SNC.* În contextul accidentelor vertebrale repetate, în copilărie, poate surveni retard mental moderat cu tulburări de limbaj, de adaptare, diminuarea performanţelor intelectuale.

• *Aparatul cardio-vascular.* Anemia cronică, ocluziile recurente în circulaţia pulmonară, hemosideroza miocardică şi HTA secundară insuficienţei renale suprasolicită cordul fie stâng, drept sau global, cu hipertrofie şi, ulterior, dilatare cu decompensare.

• *Aparatul respirator.* Episoadele ischemice şi infecţioase repetitive afectează progresiv funcţia pulmonară cu scăderea capacităţii totale şi vitale, dezechilibru între ventilaţie şi perfuzie şi scăderea saturaţiei în oxigen a sângelui arterial.

• *Aparatul gastro-intestinal.* Siclizarea eritrocitară în sinusoidele hepatice antrenează în timp hepatomegalie şi alterări morfofuncţionale, mergând până la ciroză hepatică. Hemoliza cronică cu catabolism accelerat al hemoglobinei favorizează apariţia litiazei veziculare pigmentare.

• *Splina.* Sechestrarea splenică a eritrocitelor deformate survine precoce. Rareori poate fi acută în crize, în rest este cronică, antrenând, în primul an de viaţă, splenomegalie. Ulterior, infarctele splenice repetate antrenează scăderea volumului, fibroză şi pierderea funcţiei ("autosplenectomie"). Asplenia se instalează la vârsta de 1-2 ani cu risc infecţios crescut.

• *Rinichii.* Modulează balanţa hidrică şi acido-bazică, au consum crescut în oxigen şi au mediu hiperton, ceea ce favorizează polimerizarea HbS cu deformare eritrocitară şi obstrucţie vasculară. Aceasta, împreună cu hipertrofia glomerulară, scleroza glomerulară focală, obstrucţia vaselor papilare conduc la hipostenurie, proteinurie, hematurie, necroză papilară, sindrom nefrotic, evoluând spre insuficienţă renală acută sau cronică.

• *Sistemul ocular.* Episoadele vaso-ocluzive la nivel retinal antrenează modificări neproliferative sau proliferative.

• *Ulcerul cronic de gambă.* Staza la nivelul vaselor mici care irigă zonele perimaleolare favorizează apariţia de ulcere recidivante la acest nivel. Suprainfectarea favorizează cronicizarea leziunilor.

• *Infecţiile.* Constituie o complicaţie frecventă, mai ales la vârste sub 5 ani. Constituie una dintre cele mai frecvente cauze de spitalizare şi principala cauză de deces. Germenii mai

frecvent izolaţi sunt *Streptoccoccus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Salmonella, Staphyloccoccus, Mycoplasma pneumoniae.* Infecţiile cele mai frecvente vizează plămânul, osul, aparatul urinar.

c) Sarcina– constituie o situaţie de risc atât pentru mamă, cât şi pentru făt. Totuşi riscul nu contraindică sarcina, implicând o consiliere maternă şi supraveghere activă.

Efecte asupra mamei :

- creşterea incidenţei pielonefritei, hematuriei, tromboflebitelor
- creşterea riscului infarctelor majore
- anemie mai severă
- risc crescut de toxemie gravidică, infecţii puerperale

Efecte asupra fătului :

- risc crescut de avort şi moarte intrauterină
- risc crescut de naştere prematură, greutate mică la naştere, icter neonatal.

INVESTIGAŢII PARACLINICE

Hemograma evidenţiază :

• anemie moderată/severă normocromă, normocitară, regenerativă. Hb variază între 6 şi 10 g/dl

• reticulocitele variază înre 5 şi 20% cu o medie de 10%

• hiperleucocitoză (10-20 mii/mm^3) cu polinucleoză, în absenţa proceselor infecţioase

• trombocitoză moderată (300.000 – 600.000/mm^3).

Frotiul de sânge periferic evidenţiază :

• anizocitoză, poikilocitoză, prezenţa de hematii în ţintă, ovalocite şi mai ales drepanocite (hematii falciforme, în seceră), al căror număr creşte în condiţii de hipoxie

• semne de asplenie : siderocite, corpi Jolly

• semne de eritropoieză accelerată : policromatofilie, incluzii basofile, eritroblaşti.

Electroforeza hemoglobinei are valoare diagnostică şi evidenţiază :

• prezenţa de HbS care înlocuieşte HbA

• procentul de HbA_2 este normal

• procentul de HbF este moderat crescut (5-15%)

Alte analize :

• VSH este scăzut, în ciuda anemiei, sindromului inflamator sau infecţiilor

• LDH crescut cu accentuare în cursul crizelor vaso-ocluzive

• haptoglobina este scăzută

• ALP crescute în cursul crizelor dureroase.

TRATAMENT

În principiu, tratamentul drepanocitozei este un tratament de susţinere, bazându-se pe transfuzii, hidratare, oxigenoterapie şi analgezie. Tratamentele specifice care au drept scop prevenirea precipitării HbS cu apariţia drepanocitelor, cât şi de prevenire a efectului

hematiilor anormale asupra hemodinamicii sunt în mare parte experimentale şi doar puţine au ajuns în practica curentă.

1. Terapia transfuzională

- rămâne atitudinea terapeutică cea mai eficace şi cea mai puţin controversată
- scopul principal este acela de a creşte capacitatea de transport în oxigen a sângelui cu diminuarea tendinţei la polimerizare a HbS
- majoritatea autorilor recomandă pentru fiecare şedinţă transfuzională să nu se depăşească un Ht de 35% şi de a menţine concentraţia HbS în jurul cifrei de 30%, în scopul de a menţine un echilibru optim între capacitatea de transport a O_2 şi condiţiile reologice ale sângelui
- există trei modalităţi transfuzionale, în funcţie de context :

• ***Transfuzia simplă*** - este necesară în cazurile de scădere dramatică a capacităţii de transport a O_2 în absenţa unui risc crescut de accidente vaso-ocluzive (crizele aplastice, hiperhemoliza, sechestraţia splenică, hemoragiile).

• ***Transfuzia cronică*** - corespunde unui program de şedinţe transfuzionale iterative eşalonate pe o durată de peste 6 luni. Reprezintă modalitatea terapeutică cea mai fiziologică. Asigură o inhibare constantă a producţiei de HbS şi menţinerea HbA în limite de siguranţă. Astfel, se poate preveni recidiva accidentelor obstructive cu leziuni organice secundare.

• ***Schimbul transfuzional (exanguino-transfuzia)*** – se realizează o diminuare a HbS la schimb cu Hb normală de la donator. Se poate, astfel, ajusta rapid şi simultan valoarea Ht şi Hb cu ameliorarea perfuziei tisulare fără risc de încărcare volumică sau de creştere a vâscozităţii sanguine. Indicaţiile sunt multiple, dar pe primul plan rămâne tratamentul complicaţiilor grave cu risc lezional sau vital.

2. Strategia terapeutică

➢ ***Crizele vaso-ocluzive*** – scopul tratamentului este de a suprima durerea, preveni continuarea ocluziilor ireversibile cu leziuni organice, prezervarea integrităţii tisulare. Modalităţile principale sunt reprezentate de hidratare corectă şi analgezice.

- hidratare adecvată pentru a corecta hipervâscozitatea şi a compensa orice pierderi. Se folosesc perfuziile în ritm de 100-200 ml/h în paralel cu aportul per os.
- corectarea acidozei prin introducerea în perfuzii de soluţie de bicarbonat de sodium
- tratarea oricărui episod infecţios cu antibioterapie corespunzătoare
- oxigenoterapie – administrarea pe sondă nazală a 4-5 l/min
- anticoagulantele nu par a juca un rol major
- combaterea durerii - se impune utilizarea de la început de analgezice potente (morfinice) pentru controlul crizelor dureroase. Se preferă administrarea lor sistematică, la intervale regulate şi nu la cerere. Se va începe cu preparate injectabile administrate în doze mici şi la intervale scurte, pentru ca apoi să se crească intervalul şi să se treacă la preparate orale. Dezvoltarea dependenţei la antialgice rămâne o problemă. Pentru potenţarea rezultatelor, se poate asocia Metilprednisolon în pulsuri sau un antiinflamator nesteroidian cu acţiune prelungită (Ketorolac sau Profenid).

- crizele hiperalgice care rezistă la tratament pot fi controlate prin schimb transfuzional, iar crizele severe şi frecvente pot necesita introducerea într-un program transfuzional cronic.

➢ ***Anemia*** reprezintă o indicaţie pentru transfuzie, în momentul când devine simptomatică.

➢ ***Sarcina*** – la mamele drepanocitare asociază, în cursul ultimului trimestru, un risc morbid crescut pentru mamă şi făt. Rezultatele studiilor asupra atitudinii transfuzionale profilactice sistematice comparativ cu transfuzii doar în caz de necesitate sunt contradictorii. Se recomandă asigurarea unei supravegheri stricte pe toată durata sarcinii cu controale mai frecvente. Programul transfuzional profilactic trebuie rezervat doar cazurilor cu risc crescut : sarcini gemelare, persoane cu avorturi repetate în antecedente. În restul cazurilor, se transfuzează doar în caz de complicaţii.

3. Noi modalităţi terapeutice

➢ ***Stimulatori ai sintezei HbF***. Prezenţa HbF în hematiile noilor-născuţi drepanocitari, ca şi la pacienţii care asociază un fenotip de persistenţă ereditară a HbF inhibă siclizarea şi se însoţeşte de o formă clinică mai uşoară. Această observaţie, ca şi confirmarea sa a antrenat căutarea de compuşi capabili de stimulare a producţiei de HbF. Mai multe studii terapeutice cu diverşi produşi (5-Azacytidine, Hydroxyuree, Eritropoietina,...) au fost realizate.

➢ ***Agenţi antisiclizanţi*** – blochează polimerizarea Hb şi menţin integritatea membranei eritrocitare. Agenţii sunt în studiu, fără rol therapeutic.

➢ ***Reducerea CHEM*** – tratamentul se bazează pe faptul că scăderi mici ale CHEM întârzie semnificativ polimerizarea deoxi-HbS şi inhibă siclizarea.

➢ ***Transplantul medular*** – are potenţial curativ prin normalizarea sintezei de Hb la aceşti pacienţi. Riscul morbid şi letal al transplantului, ca şi raritatea donatorilor compatibili limitează mult utilizarea sa.

ANEMII HEMOLITICE EXTRACORPUSCULARE NEIMUNOLOGICE

Acest termen generic cuprinde anemii hemolitice produse prin mecanisme variate, dar care, toate, antrenează o distrugere atât a hematiilor bolnavului, cât şi pe cele normale. Acest caracter poate fi demonstrat cu ajutorul hematiilor autologe şi allogenice radiomarcate introduse în circulaţia pacientului. Se pune în evidenţă scurtarea duratei de supravieţuire, similară în ambele cazuri. Se demonstrează, astfel, că factorul cauzal este exterior eritrocitului care este normal.

În acest grup se încadrează :

I. Anemiile hemolitice prin fragmentare (mecanice)
II. Anemiile hemolitice din infecţii, înţepături de insecte, venin de şarpe
III. Anemiile hemolitice prin agresiune chimică sau fizică

1. ANEMIILE HEMOLITICE PRIN FRAGMENTARE (MECANICE)

În cadrul acestui tip de anemii hemolitice, hemoliza se datorează unei rupturi traumatice a hematiilor sub acţiunea unui factor fizic extracorpuscular, din sistemul cardiovascular (cord, vasele mari sau cele de calibru mic). Cauza fragmentării este reprezentată fie de un obstacol lovit direct, fie de regimul circulator turbulent indus de acel obstacol.

Uneori, traumatismul suferit de eritrocite este suficient de intens pentru a se ajunge la hemoliză intravasculară cu hemoglobinemie, hemoglobinurie, hemosiderinurie. Mai frecvent, traumatismul antrenează fragmentarea celulei în segmente mai mici cu aspect de microsferocite şi de schizocite (formă triunghiulară, de coif), cu durată de supravieţuire mult scurtată.

Punerea în evidenţă de schizocite la examenul frotiului din sângele periferic este foarte sugestivă pentru o anemie hemolitică prin fragmentare. Totuşi, schizocitele nu sunt patognomonice pentru acest tip de hemoliză, ele fiind semnalate şi în hemolizele toxice, mielodisplazii, mielofibroză.

a. Hemolize în anomalii ale cordului şi vaselor mari

După realizarea, în anii 50, a primelor intervenţii chirurgicale corectoare pe cord, au fost semnalate primele cazuri de anemie hemolitică intravasculară la unii dintre pacienţii operaţi.

Contexte de apariţie :

- proteze valvulare sintetice
- proteze valvulare biologice homologe
- proteze valvulare xenobiologice
- valvuloplastii autologe
- petice intracardiace
- valvulopatii severe neoperate
- anevrism de sinus Valsalva rupt
- coarctaţie de aortă +/- bicuspidie aortică
- defect septal ventricular
- endocardite vegetante (predominant aspergilare)

Mecanismele implicate în hemoliza din aceste situaţii :

➢ traumatismul mecanic direct prin impactul eritrocitelor în obstacolul creat de proteză;

➢ prezenţa turbulenţelor de flux sanguin cu crearea de forţe de forfecare, în vecinătatea protezelor ;

➢ alterarea mecanică a membranei eritrocitare poate expune antigene de suprafaţă din membrane eritrocitare cu stimularea producţiei de autoanticorp;

➢ declanşarea unei reacţii minime grefă contra gazdă de către limfocitele din preparatele transfuzate.

Clinică

Anemia care survine în aceste cazuri este variabilă ca severitate, adesea fiind uşoară, bine compensată, încât, în plan clinic, predomină boala cardiacă de bază. Rareori hemoliza este

severă, impunând tratament compensator. Uneori, anemia severă coincide cu deteriorarea status-ului general, prin alterări la nivelul protezei care agravează hemoliza.

În cazurile manifeste, se asociază şi un sindrom icteric.

Laborator

Severitatea anemiei este variabilă, de la cazuri cu Hb normală până la cazuri cu anemie severă normocromă, normocitară, regenerativă cu reticulocitoză compensatorie (ce dă uneori un grad de macrocitoză). Formele severe asociază hemoglobinemie, hemoglobinurie, hemosiderinurie.

În formele cronice, prin hemosiderinurie repetată, se spoliază rezervele marţiale cu apariţia hipocromiei. Analiza frotiului pune în evidenţă schizocite şi microsferocite.

Se asociază semne biochimice de hemoliză : hiperbilirubinemie indirectă, creştere LDH seric.

Ecografia transtoracică şi transesofagiană este necesară pentru evaluarea status-ului protezei.

Tratament

Se impune reintervenţia pentru corectarea defectelor de protezare care cauzează hemoliza. În cazurile necorectabile, de durată, se impune asocierea tratamentului marţial şi, eventual, cu acid folic.

b. Anemia hemolitică microangiopatică (boala vaselor mici)

Distrucţia eritrocitară din anemia hemolitică microangiopatică survine ca urmare a unuia din cele două mecanisme :

➢ depunerea de fibrină pe faţa endotelială a vaselor de mic calibru cu traumatizarea hematilor la trecerea prin aceste vase ;

➢ anomalii la nivelul peretelui vascular produse de hipertensiunea arterială severă sau de vasoconstricţie.

Contextele patologice în care survin cele două mecanisme sunt :

- sindromul hemolitic uremic
- purpura trombotică trombocitopenică
- diseminări carcinomatoase (stomac, sân, pancreas, plămân…)
- chimioterapia (Cisplatin, Bleomicin …)
- preeclampsia şi eclampsia
- HTA malignă
- coagularea intravasculară diseminată
- hemangioamele tumorale
- infecţiile
- afectarea vasculară imună
  - reacţia de respingere a grefonului
  - LES
  - glomerulonefrita acută

c. Hemoglobinuria de marş

- hemoglobinuria de marş este o anemie hemolitică caracterizată prin hemoglobinemie şi hemoglobinurie tranzitorii, survenite în urma unui efort fizic susţinut care a implicat contactul corpului cu suprafeţe rigide;
- hemoliza intravasculară survine prin agresiunea mecanică a hematiilor la trecerea prin circulaţia de la nivelul tălpilor, în timpul anumitor exerciţii fizice susţinute;
- boala survine aproape exclusiv la sexul masculin, vârsta predominantă fiind situată în a doua şi a treia decadă de viaţă. Exerciţiile fizice care antrenează hemoglobinuria sunt : marş prelungit, alergare, dans stepat, karate;
- boala se manifestă prin apriţia de urini hipercrome după exerciţiile fizice amintite. Uneori pot fi însoţite de greţuri, jenă la nivelul abdomenului, regiunea lombară, coapse, senzaţia de arsură la nivelul tălpilor. Examenul clinic este, adesea, fără modificări. Uneori, se evidenţiază o hepato-splenomegalie discretă;
- analizele evidenţiază, uneori, o anemie moderată cu policromatofilie, reticulocitoză moderată. Schizocitele sunt absente. Testele de fragilitate osmotică şi mecanică sunt normale. Biochimic, se constată hemoglobinemie, scăderea haptoglobinei, bilirubina crescută, LDH crescută. Examenul urinar : hemoglobinurie şi hemosiderinurie;
- nu există un tratament specific. Se recomandă utilizarea unor încălţări cu talpă mai puţin rigidă care să amortizeze contactul cu solul, eventual evitarea exerciţiilor care pot provoca hemoglobinuria.

2. ANEMIILE HEMOLITICE DIN INFECŢII, ÎNŢEPĂTURI DE INSECTE, VENIN DE ŞARPE

a. Anemii hemolitice prin agresiune infecţioasă

Acest grup include numai anemiile hemolitice produse direct de către agresiunea factorului infecţios. Agenţii infecţioşi pot interveni şi indirect, prin alte mecanisme (aceste anemii fiind incluse în alte capitole) :

➢ infecţiile bacteriene sau virale pot scoate în evidenţă sau agrava o anemie hemoltică dobândită sau ereditară, pre-existentă, antrenând o inhibare a hematopoiezei (ex. infecţia cu parvovirus în sferocitoza ereditară);

➢ infecţii virale (herpes, gripă, rujeolă, rubeolă, coxsackie) pot antrena o anemie hemolitică prin mecanism auto-imun;

➢ infecţiile sau tratamentul lor la pacienţii cu deficit de G6PD pot antrena hemoliză.

Contextele infecţioase asociate cu anemie hemolitică prin agresiune directă sunt :

- paludismul (malaria)
- babesioza
- tripanosomiaza (boala somnului)
- toxoplasmoza (mai ales forma congenitală)
- septicemia clostridiană
- septicemia cu *Clostridium perfringens*

- bartoneloza (*Bartonella baciliformis*)
- febra tifoidă
- septicemiile cu *Salmonella, E coli, Haemophilus influenzae*
- *Borrelia recurentis*
- leptospiroza
- tuberculoza - în faza miliară

b. Anemii hemolitice prin veninuri

- veninuri de păianjeni
- veninuri de şarpe
- veninuri de albină - hemoliza a fost semnalată extrem de rar în caz de înţepături de albină.

3. ANEMIILE HEMOLITICE PRIN AGRESIUNE CHIMICĂ SAU FIZICĂ

a. Anemii hemolitice prin agresiune chimică

Produşii chimici implicaţi în acest tip de hemoliză fac parte din mediul profesional industrial sau agrar, fac parte din uzajul domestic (absorbiţi din eroare sau în scop autolitic) sau sunt medicamente administrate în doze inadecvate.

Mecanismele care conduc la hemoliză sunt variate :

➢ leziuni membranare datorită acţiunii lipolitice (derivaţi hidrocarburi aromatice) sau proteinolitice (metale grele);

➢ acţiunea de oxidare a hemoglobinei (fie direct, fie prin formarea de radicali liberi depăşind capacitatea de neutralizare de către sistemul dependent de glutation) cu formarea de corpi Heinz (precipitate de hemoglobină oxidată). Radicalii liberi pot determina şi leziuni membranare prin formarea de peroxizi de lipide.

➢ corpii Heinz sunt fagocitaţi de macrofagele splenice, antrenând fragmentarea eritrocitară, formarea de microsferocite, schizocite cu durată scurtă de viaţă.

Agenţi implicaţi :

Agenţi oxidanţi - sunt agenţii prezentaţi la capitolul anemiilor prin deficit de G-6-PD. Marea majoritate a agenţilor nemedicamentoşi sunt derivaţi de hidrocarburi aromatice.

Metale grele - antrenează leziuni membranare şi deficite enzimatice multiple:

- intoxicaţia cu hidrogen arseniat
- intoxicaţie cu cupru
- intoxicaţia cu plumb

b. Anemii hemolitice prin agenţi fizici

➢ *Agresiunea termică.* Arsurile termice extensive antrenează la câteva zile de la producere o anemie hemolitică intravasculară cu scizocite, sferocite, echinocite, în paralel cu creşterea fragilităţii fizice şi osmotice a hematiilor. Alterările eritrocitare se datorează acţiunii directe a căldurii asupra hematiilor cu denaturarea ireversibilă a spectrinei din citoscheletul eritrocitar. Hematiile parţial alterate sunt îndepărtate de splină, în timp ce hematiile sever alterate sunt captate şi distruse de ficat.

➢ *Apa distilată*. Apa distilată injectată intravenos rapid antrenează anemie hemolitică cu sferocitoză. Contextele de apariţie : spălare vezicală la prostatectomizaţi, hemoliza la înecaţi.

➢ *Radiaţiile ionizante*. Acestea provoacă, în doze mari, hemoliză, fapt demonstrat *in vitro*, dar nu există cazuri comunicate în patologia umană.

ANEMII HEMOLITICE IMUNOLOGICE

GENERALITĂŢI

Anemiile hemolitice imunologice reprezintă distrugeri ale hematiilor ca urmare a unui eveniment imunologic care survine la suprafaţa hematiilor. Două mecanisme principale intervin :

➢ implicarea directă a membranei eritrocitare ca urmare a acţiunii anticorpilor, singuri sau asociind complementul, asupra unor structuri antigenice de pe membrană.

➢ afectarea indirectă a membranei eritrocitare prin formarea unor complexe imune în circulaţie şi adsorbţia lor pe membrana eritrocitară, cu fixarea complementului şi lizarea eritrocitelor de către macrofagele sistemului reticuloendotelial.

Anemiile hemolitice imunologice se clasifică în :

- ❖ anemii hemolitice autoimune
- ❖ anemii hemolitice imunologice induse medicamentos
- ❖ anemii imunologice alloimune

FIZIOPATOLOGIE

Distrucţia eritrocitelor, determinată de prezenţa anticorpilor, poate apărea ca urmare a activării sistemului complement, având drept consecinţă principală hemoliza intravasculară, apoi ca urmare a intervenţiei sistemului fagocitant, conducând la hemoliză extravasculară, în sfârşit, ca urmare a asocierii celor două mecanisme.

a. Hemoliza intravasculară

- activarea sistemului complement determină, în final, distrucţia membranei eritrocitare cu hemoliză intravasculară caracterizată prin hemoglobinemie şi hemoglobinurie;
- sistemul complement poate fi activat pe calea clasică sau pe cea alternă. Prima este cea care predomină. Sistemul complement este activat pe calea clasică de către **IgM**, **IgG1**, **IgG2** şi **IgG3**, dar nu şi de **IgG4** sau **IgA**.

b. Hemoliza extravasculară

- survine în cazul implicării anticorpilor care nu fixează complementul sau când pe membrana eritrocitară se fixează componente ale sistemului complement fără activarea completă a acestuia. Aceste imunoproteine sunt bifuncţionale, putând adera pe de o parte la eritrocit, pe de altă parte la structuri de pe celulele efectoare (macrofage). Astfel, imunglobulinele fixate pe eritrocitele circulante pot reacţiona cu receptorii Fc de pe celulele efectoare, ceea ce

determină fixarea eritrocitului pe celula fagocitantă cu fagocitarea integrală sau parţială a acestuia, sau distrugerea lor fără fagocitare (citotoxicitate mediată celular, dependentă de anticorpi).
- eritrocitele sunt distruse la nivelul ficatului şi splinei.

1. ANEMII HEMOLITICE AUTOIMUNE (AHAI)

GENERALITĂŢI

- anemiile hemolitice autoimune sunt anemii rezultate în urma distrugerii de eritrocite prin intermediul unor auto-anticorpi fixaţi pe anumite structuri antigenice prezente pe membrana eritrocitară;
- fixarea auto-anticorpilor pe antigenele corespunzătoare declanşează o serie de reacţii în lanţ care au drept consecinţă fie distrugerea directă a hematiilor, în circulaţie, antrenând hemoliză intravasculară, fie captarea lor de către sistemul macrofagic cu hemoliza extravasculară sau tisulară. Fracţiunile complementului activat participă adesea la procesul de hemoliză autoimună;
- distrucţia eritrocitară antrenează scăderea PaO_2 cu stimularea producţiei de eritropoietină. Aceasta va stimula, la nivel medular, accelerarea producţiei pe seria eritroblastică reflectată în nivelul crescut al reticulocitelor;
- AHAI este o anemie regenerativă.

EPIDEMIOLOGIE

- incidenţa anuală a bolii este de aproximativ 1/80.000
- boala poate surveni la orice vârstă, cu o discretă predominanţă feminină (60%)

CLASIFICARE

Există mai multe tipuri de clasificare, în funcţie de criteriul utilizat :

➢ **Clasificarea evolutivă**

- *Forme acute* – forme cu instalare brutală, manifestate prin tablou de hemoliză intravasculară de severitate variabilă. Evoluţia durează câteva săptămâni cu potenţial curativ definitiv, dar şi de recădere.
- *Forme cronice* – cu instalare insidioasă şi evoluţie etalată pe luni – ani. Procesul de hemoliză este continuu sau intermitent, relativ compensat în afara puseelor hemolitice. Potenţialul curativ este redus.

➢ **Clasificare etiologică**

- *Forme idiopatice sau primitive* - în care nu se evidenţiază nici un context etiologic. Diagnosticul este adesea de excludere.
- *Forme secundare* - în care AHAI survine ca o complicaţie evolutivă a unei boli de bază. Sunt mai frecvente la persoanele în vârstă (60-80%). Este necesară căutarea unei afecţiuni de fond în fiecare caz de AHAI diagnosticat.

➢ **Clasificare imunologică** - se bazează pe activitatea termică a auto-anticorpilor *in vitro* :

- *AHAI cu auto-anticorpi la cald* – fixarea anticorpului pe antigen este maximală la 37^0C. În majoritatea cazurilor, auto-anticorpii sunt de tip IgG, non-aglutinanţi şi decelabili prin tehnica Coombs directă.
- *AHAI cu auto-anticorpi la rece* – fixarea anticorpului este maximă la 4^0C. În majoritatea cazurilor, anticorpii sunt de tipIgM, aglutinanţi şi fixează complementul. Sunt decelaţi în ser (test Coombs indirect).

CONTEXTE ETIOLOGICE ŞI BOLI ASOCIATE

Studiile mai recente au evidenţiat frecvenţa mai mare a formelor secundare în raport cu cele idiopatice care reprezintă 35-40% din total. Diferenţa este mult mai evidentă în formele cu anticorpi la rece.

În cazul formelor acute care survin în context postinfecţios, 90% din cazuri au aglutinine la rece, în timp ce majoritatea cazurilor de AHAI prezente în LLC şi rectocolita ulcero-hemoragică sunt cu anticorpi la cald.

a. Sindroame limfoproliferative

- Leucemia limfatică cronică - constituie contextul etiologic cel mai des semnalat (10 – 25%). AHAI este una din complicaţiile evolutive des întâlnite. Poate asocia şi o trombocitopenie autoimună (sdr Evans).
- Boala Hodgkin asociază AHAI în 3-5% din cazuri.
- Limfoamele non-hodgkiniene asociază, dar mai rar.
- Limfadenopatia angioimunoblastică asociază un test Coombs pozitiv în 55% din cazuri.

b. Sindroame mieloproliferative – asocierea este extrem de rară.

c. Boli autoimmune – context ce trebuie să reţină atenţia:

- lupusul eritematos sistemic
- poliartrita rheumatoidă
- rectocolita ulcero-hemoragică
- tiroidita auto-imună
- timoame
- deficite imunitare ereditare

d. Tumori solide – asocierea reprezintă 6% din AHAI secundare:

- tumori ovariene, predominant chist ovarian
- sarcomul Kapossi
- adenom pancreas
- tumori renale, colon, plămân

e. Infecţii – infecţiile virale la copil pot fi urmate de o AHAI cu caracter acut şi tranzitoriu.

f. Anemiile hemolitice corpusculare – crizele de hiperhemoliză

g. Hemodializa cronică

h. Intervenţiile chirurgicale – cele care implică circulaţie extracorporeale

i. Grefele de organ şi cele medulare – anticorpii responsabili de liză sunt produşi de limfocitele provenite de la donator.

j. Sarcina – AHAI este semnalată la 1/50.000 de sarcini. Apare în trimestrul al III-lea şi severitatea este variabilă. Adesea, testul Coombs rămâne negativ.

Diagnosticul AHAI se bazează pe trei elemente esenţiale :

- prezenţa sindromului anemic
- prezenţa semnelor de hemoliză
- punerea în evidenţă a auto-anticorpilor anti-eritrocitari.

Evidenţierea şi studiul celor din urmă se realizează cu ajutorul câtorva teste :

* ***Testul Coombs direct***. Testul are drept scop punerea în evidenţă a prezenţei de auto-anticorpi (imunglobuline) şi/sau componente ale sistemului complement fixate pe membrana eritrocitară.

* ***Testul Coombs indirect***. Are drept scop punerea în evidenţă a autoanticorpilor prezenţi în ser. Testul este pozitiv în 60-75% din cazurile cu anticorpi la cald. În cazul AHAI cu anticorpi la rece se impune studiul serului la diferite temperaturi pentru punerea în evidenţă şi titrarea aglutininelor la rece. În cazul hemolizinelor bifazice, testul se începe prin incubarea serului de la pacient şi eritrocitelor test la rece, apoi la 37^0C.

* ***Testul de dizolvare***. Constă în disocierea autoanticorpului de pe suprafaţa eritrocitului sensibilizat şi trecerea sa în mediu lichid pentru a-i studia caracteristicele. Scopul principal este de a determina specificitatea autoanticorpului.

TIPURI DE AHAI

a. AHAI cu anticorpi la cald

- reprezintă aproximativ 70% din AHAI
- aceşti anticorpi reacţionează în mod optim la 37^0 C
- sunt descrise două tipuri : primare sau idiopatice, în care cauza este neidentificabilă, şi secundară, asociată cu un alt context patologic (sdr limfoproliferative, boli autoimune, tumori solide şi deficite imune)
- pot surveni la orice vârstă, dar frecvenţa creşte după 50 ani. Sunt descrise două pic-uri ale incidenţei : primul în jurul vârstei de 10 ani şi un al doilea între 60-70 ani
- se observă o incidenţă discret mai mare la sexul feminin – 60%

Patogenie

- Anticorpii cu reactivitate la cald sunt cel mai adesea de tip IgG, mai rar de tip IgM sau IgA. Anticorpii sunt policlonali.
- Reacţia între anticorpi şi eritrocite este maximă la 37^0 C. Anticorpul odată fixat, nu fixează decât rar complementul (mai ales în cazul subclaselor IgG1 şi IgG3).
- Anticorpii cu reactivitate la cald sunt panaglutinine, reacţionând cu toate eritrocitele. În 70% din cazuri, este un antigen aparţinând sistemului Rh.

▪ In cazul anticorpilor la cald, hemoliza eritrocitară este extravasculară. Receptorul pentru Fc de pe suprafaţa fagocitelor se fixează pe anticorpul de pe suprafaţa eritrocitară reţinându-l în sistemul reticuloendotelial (predominant splină).

Clinică

Tabloul clinic este variabil putând îmbrăca un aspect acut sau unul cronic.

▪ *forma acută* - anemia se instalează relativ rapid, în câteva zile asociind febră, diaree, vărsături, uneori mergând până la şoc hipovolemic. Examenul clinic evidenţiază paloare şi urini hipercrome (roşii-negre). Icterul se instalează ulterior.

▪ *forma cronică* - debutul este progresiv, cu semne funcţionale ale anemiei, de tip cefalee, tulburări de concentrare, ameţeli, astenie, adinamie, apatie, dispnee de efort, palpitaţii, crize anginoase. Diferite contexte de suprasolicitare – episoade infecţioase, traumatisme accidentale sau chirurgicale, sarcină, stress psihic – pot declanşa un puseu hemolitic acut. Examenul clinic evidenţiază splenomegalie moderată în peste 70% din cazuri şi hepatomegalie în 40% din cazuri. Se pot evidenţia microadenopatii, litiază biliară asimptomatică. Prezenţa unor mase adenopatice mai mari obligă la investigarea unui eventual sindrom limfoproliferativ.

Examen paraclinic

▪ ***Hemograma*** – anemie de gravitate variabilă, de la forme uşoare la cele severe cu Hb de 4 g/dl şi Ht de 10%. Anemia este normocromă, normocitară, uneori macrocitră datorită reticulocitozei asociate de 20 – 60% (anemie regenerativă). Există cazuri cu reticulocite normale sau chiar scăzute. Frotiul poate evidenţia prezenţa de microsferocite (datorită fagocitozei parţiale din splină). Datorită hiperfuncţiei medulare compensatorii, se asociază leucocitoză (până la 15.000/mm^3) cu mielemie şi trombocitoză. În unele cazuri, se asociază trombocitopenie (sindrom Evans) sau pancitopenie autoimună.

▪ ***Mielograma*** – este indicată în cazurile cu reticulocitopenie şi când se suspicionează o hemopatie malignă subjacentă. Adesea, măduva este hiperplazică, predominant pe seria roşie, cu un raport serie eritrocitară/granulocitară apropiat de 1. Există cazuri cu eritroblastopenie, în caz de asociere a unei infecţii cu Parvovirus, tulpina 19 (mai ales la copil) sau prezenţa unor auto-anticorpi cu acţiune asupra progenitorilor (BFU-E/CFU-E). Prezenţa unei megaloblastoze sugerează asocierea unui deficit în folaţi (hiperconsum prin hiper-regenerare medulară).

▪ ***Biochimie*** – prezenţa semnelor de hemoliză cu : bilirubina indirectă crescută, haptoglobina liberă scăzută, LDH crescut, fierul seric crescut, ca şi siderofilina.

▪ ***Teste de hemoliză*** - testul de fragilitate osmotică şi testul de autohemoliză la 37^0 C sunt normale, testul Ham-Dacie este negativ.

▪ ***Testele imunologice*** – testul Coombs direct este pozitiv cu excepţia a aproximativ 4% din cazuri (datorită sensibilităţii insuficiente a reactivilor folosiţi). Analiza proteinelor fixate pe eritrocit evidenţiază patru situaţii diferite :

- prezenţa unei imunglobuline izolate (aproape întotdeauna IgG, prezentă în formele idiopatice şi în cele asociate cu hemopatii maligne);

- prezenţa simultană a unei imunglobuline şi a complementului (IgG+C4d şi C3d sau IgG+IgM+C, mai ales în formele asociate cu conectivite);
- prezenţa izolată de complement;
- absenţa de proteine decelabile - testul Coombs indirect evidenţiază prezenţa de autoanticorpi circulanţi.

Prognostic

Prognosticul pentru fiecare pacient este dificil de apreciat. Un procent redus de pacienţi intră în remisiune completă stabilă, în timp ce alţii au o formă cronică, relativ bine controlată terapeutic. Rata mortalităţii la 5-10 ani de evoluţie este apreciată la 15-20%.

b. AHAI cu anticorpi la rece

▪ anticorpii reactivi la rece se caracterizează prin creşterea titrului şi a capacităţii de legare pe antigenul eritrocitar atunci când temperatura tinde către 0^0C ;

▪ aceşti anticorpi determină două sindroame clinice : boala aglutininelor la rece şi hemoglobinuria paroxistică la rece, *a frigore*;

▪ ambele reprezintă aproximativ 20% din cazurile de AHAI;

▪ aglutininele la rece sunt, de obicei, anticorpi monoclonali, de tip IgM, conţinând lanţuri uşoare de tip kappa. Aceşti anticorpi nu aglutinează eritrocitele la temperaturi de peste 30^0C, în schimb fixarea lor pe eritrocite creşte progresiv cu scăderea temperaturii;

▪ manifestarea principală este o anemie hemolitică cronică accentuată de expunerea la frig.

⇨ Boala aglutininelor la rece

- apre în două forme :

▪ *Forma primară sau idiopatică* - survine predominant la vârstnici cu o incidenţă maximă în jurul vârstei de 70 ani. Ambele sexe sunt afectate cu discretă predominanţă feminină.

▪ *Forma secundară* - survine în asociere cu limfoproliferări de tip B, în neoplasme solide, boli autoimune şi în anumite infecţii predominant virale (micoplasme, CMV, rubeola, varicela, listerioza).

Patogenie

▪ marea majoritate a aglutininelor la rece sunt de tip IgM;

▪ peste 90% dintre anticorpii reactivi la rece au ca ţintă antigenul I de pe suprafaţa eritrocitară, în timp ce restul se leagă de antigenul i;

▪ aglutininele la rece se fixează pe membrana eritrocitară în circulaţia periferică, în condiţii de temperaturi mai joase. La pătrunderea eritrocitelor în circulaţia profundă, cu temperaturi mai ridicate, auto-anticorpii ataşaţi pot fixa şi activa complementul şi se pot desprinde de pe eritrocit având capacitatea de a se fixa pe alte eritrocite indemne cu reluarea procesului;

▪ hemoliza survine prin trei mecanisme :

- activarea completă a sistemului complement cu liză intravasculară
- inactivarea completă a complementului până la C3b şi captarea eritrocitelor în sistemul reticuloendotelial, predominant în ficat

- traumatizarea mecanică a eritrocitelor în microvascularizaţia periferică obstruată de aglutinate (rar).

Clinică

- *Forma cronică* - survine predominant la adulţi, peste 50 ani, cu o incidenţă maximă în jurul vârstei de 70 ani. Se manifestă printr-o anemie hemolitică uşoară cu caracter cronic. Când hemoliza se accentuează, survine paloare şi icter scleral. În condiţii de temperaturi scăzute, apar pusee de hemoliză. Eritrocitele aglutinează în microcirculaţia superficială cu producerea acrocianozei la nivelul nasului, urechilor, mâinilor şi picioarelor. Degetele devin reci, rigide, dureroase sau cu parestezii. Ele pot deveni violacee sau cu aspect de *livedo reticularis*. Examenul clinic evidenţiază, uneori, splenomegalie şi hepatomegalie discretă.
- *Forma acută* - survine mai ales la copiii sub 5 ani. Majoritatea cazurilor sunt secundare unui proces infecţios viral sau unei pneumopatii atipice cu mycoplasma sau legionella. Episodul hemolitic survine în perioada de recuperare sau la 2 săptămâni de la episodul infecţios. Manifestările sunt acute, dar episodul este autolimitant în 2-4 săptămâni.

Examene de laborator

- În *formele acute* – se evidenţiază hemoglobinurie, scăderea haptoglobinei serice (sub 0,01 g/l), creşterea LDH seric, creşterea reticulocitelor.
- În *formele cronice* – anemie uşoară cu caracter cronic, cu pusee de agravare. Atrage atenţia imposibilitatea automatelor de a aprecia corect populaţia eritrocitară cu un număr de eritrocite fals scăzut, dar cu VEM şi CHEM crescute în mod exagerat (prin formarea agregatelor de hematii aglutinate). Examenul frotiului de sânge periferic pe o lamă caldă poate evidenţia agregate eritrocitare. Reticulocitele sunt uşor crescute. Celelalte linii sunt normale. Semne de hemoliză cu creşterea bilirubinei indirecte, LDH, scăderea haptoglobinei.
- Studiile imunologice – testul Coombs direct este pozitiv cu ser polispecific, dar cu ser monospecific se evidenţiază numai complementul (aglutinina a disociat). Studiul serului prin testul Coombs indirect evidenţiază titruri crescute (1:1000) de IgM. În formele cornice, IgM sunt monoclonale. Determină aglutinare *in vitro* la 0 – 25^{0}C şi disociere spontană la temperaturi superioare. Există forme severe, în care IgM aglutinează hematiile la 37^{0}C. În formele acute IgM sunt policlonale.

Prognostic

Prognosticul în această formă este mai bun decât al pacienţilor cu anticorpi la cald. Un procentaj important de pacienţi au o evoluţie cronică cu anemie uşoară-moderată, bine tolerată în plan clinic. Totuşi, răspunsul terapeutic la majoritatea pacienţilor este nesatisfăcător, încât în formele cu hemoliză crescută apar complicaţiile legate de anemie şi de supraîncărcarea cu fier post-transfuzională.

⇨ Hemoglobinuria paroxistică la frig

- a fost prima anemie hemolitică descrisă, datorită manifestărilor sale impresionante cu episoade de febră, durere şi hemoglobinurie care survin brutal în urma expunerii la frig ;
- reprezintă 2-5% din cazurile de AHAI ;

- poate surveni la orice vârstă cu distribuţie egală pe sexe, dar se observă o incidenţă mai mare la copii ;
- din punct de vedere al contextului etiologic, au fost descrise trei tipuri :
  - forma cronică asociată cu sifilisul în stadiile avansate sau cu sifilisul congenital
  - forma acută, tranzitorie, survenită în evoluţia unei boli infecţioase (sdr pseudogripal din mononucleoza infecţioasă, varicelă, rujeolă, rubeolă, oreillon sau după pneumopatii atipice determinate de *mycoplasma pneumoniae*)
  - forma cronică idiopatică.

Patogenie

Anticorpii implicaţi în hemoglobinuria paroxistică la frig, numiţi şi anticorpi Donath-Landsteiner, sunt de tip IgG policlonali. Tinta lor este grupa antigenică P de pe membrana eritrocitară. Antigenul P este un globozid glicosfingolipidic similar glicolipidelor Forssman prezente la mai multe micro-organisme.

Aceşti anticorpi au profil de hemolizine bifazice (puternice). Ei se fixează pe membrana eritrocitară la temperaturi scăzute. În acest moment se fixează şi fracţia C1. Odată cu creşterea temperaturii, cascada complementului continuă a fi activată până la unitatea efectoare cu liză membranară.

Clinică

- *Forma acută* - este cea mai frecventă la ora actuală. Se manifestă prin crize de hemoliză acută instalate brutal, după expunerea la frig, la câteva minute-ore. Se manifestă prin febră până la 40^{0}C, dureri lombare, abdominale sau în membrele inferioare, asociind crampe, cefalee, greţuri, vărsături, diaree. Urinile sunt hipercrome, de un roşu închis. Splina poate fi palpabilă în timpul crizei şi câteva zile după. Se pot asocia fenomene vasomotorii de tip fenomene Raynaud, urticarie *a frigore*, prurit la nivelul extremităţilor. Deşi episodul este autolimitant, uneori manifestările pot fi severe, cu risc letal.
- *Forma cronică* - este mai rară, odată cu reducerea cazurilor de sifilis. Se manifestă prin pusee de hemoliză, dar mai discrete.

Examene de laborator

- Examenele hematologice evidenţiază semne de hemoliză acută intravasculară :
  - anemie severă cu Hb sub 5 g/dl
  - prezenţa pe frotiu de sferocite, eritrocite nucleate, anizocitoză, poikilocitoză, policromatofilie
  - reticulocitopenie în timpul crizei, urmată de reticulocitoză
  - leucocitele şi trombocitele în limite normale
- Biochimie :
  - hemoglobinemie cu ser de culoare roşiatică
  - hemoglobinurie
  - haptoglobină scăzută
  - LDH, fierul seric, bilirubina indirectă crescute
  - complementul seric scăzut

- Imunologie :
  - testul Coombs direct este pozitiv – cu ser polispecific, dar cu ser monospecific este de tip complement, mai rar mixt (complement + IgG)
  - testul Donath-Landsteiner este patognomonic pentru diagnostic. Serveşte la evidenţierea hemolizinei bifazice. Se demarează prin incubarea la temperatura de topire a gheţii ser de la pacient, eritrocite spălate, de grup O,P şi ser normal ca sursă de complement. După 30-60 minute, se trece tubul la 37^0C pentru alte 30-60 minute. Liza vizibilă cu ochiul liber ce apare după incubarea la cald semnifică pozitivitatea testului.
- Diferenţierea dintre aglutinina la rece şi anticorpul Donath-Landsteiner
  - prima este aglutinină, iar a doua hemolizină
  - prima este de tip IgM, iar a doua de tip IgG
  - prima are specificitate pentru antigenul I/i, iar a doua pentru antigenul P.

TRATAMENTUL AHAI

Tratamentul AHAI menţine, în general, baze empirice, atât în formele idiopatice, cât şi în cele secundare. Obiectivul tratamentului este, în mare parte, simptomatic, având drept scop principal diminuarea hemolizei prin acţiunea asupra efectorilor distrucţiei globulare şi nu prin modularea procesului de producere a anticorpilor.

a. Metode terapeutice

❖ ***Corticoterapia***

- reprezintă, încă, baza tratamentului anemiilor hemolitice imunologice;
- eficacitatea sa rămâne incontestabilă într-un procentaj mare de cazuri;
- constituie, în majoritatea cazurilor, indicaţia terapeutică de primă intenţie;
- modalitatea de administrare (doze, durată…) depinde de forma imunologică şi evolutivă;
- mecanismele de acţiune pe care se bazează rolul corticoizilor sunt :
  - inhibarea limfocitelor T şi diminuarea sintezei de anticorpi, respectiv autoanticorpi (acţiune pe termen lung);
  - inhibarea citotoxicităţii celulare dependente de anticorpi de către macrofage;
  - inhibarea sintezei de citokine;
  - scăderea capacităţii de legare a autoanticorpilor la antigenele corespunzătoare;
  - inhibarea monocitopoiezei;
  - inhibarea clearance-ului eritrocitelor sensibilizate de către sistemul macrofagic din splină şi ficat

❖ ***Splenectomia***

Reprezintă una din primele modalităţi terapeutice (şi singura disponibilă pentru mai mult timp) utilizate în AHAI. Efectul terapeutic al splenectomiei se bazează pe :

- reducerea masei celulare producătoare de auto-anticorpi
- suprimarea unei componente principale a sistemului reticulo-endotelial cu rol în captarea şi distrucţia hematiilor sensibilizate.

Răspunsul la splenectomie este variabil, depinzând de :

- volumul splinei – cu cât este mai mare, cu atât şansa de răspuns favorabil este mai mare;
- natura auto-anticorpului sensibilizant
  - IgG care nu fixează complementul – rezultatele cele mai bune
  - IgG fixator de complement – răspuns moderat
  - Ig M fixator de complement (aglutininele la rece) – fixarea este predominant hepatică şi splenectomia este ineficace
- concentraţia de auto-anticorpi sensibilizanţi pe eritrocit
  - concentraţie slabă - captarea este splenică, deci splenectomia este eficace
  - concentraţie mare – se asociază şi captarea hepatică, încât splenectomia este mai puţin eficace.

❖ ***Medicaţie imunosupresoare***

- agenţii imunosupresori citotoxici reprezintă o medicaţie de a treia linie, în caz de eşec al corticoterapiei şi splenectomiei ;
- arsenalul citostatic cuprinde azatioprina, ciclofosfamida, clorambucil, vincristina, metotrexat, citozin-arabinozid ;
- tratamentul cu agenţii citotoxici impune supraveghere strictă datorită eefectului imunosupresor şi riscului infecţios.

❖ ***Alte tratamente***

Imunglobulinele intravenoase (IgIV) – acţionează prin mai multe mecanisme :

➢ blocarea receptorilor macrofagici prin inhibarea competitivă pentru fragmentul Fc al Ig;
➢ inhibarea sintezei auto-anticorpilor prin modularea subpopulaţiilor limfocitare.

- IgIV au o eficacitate mai mică în AHAI decât în trombocitopeniile autoimune, dar pot fi folosite mai ales în asociere cu corticoterapia.

Schimburi plasmatice – au drept scop principal diminuarea concentraţiei auto-anticorpilor circulanţi, a complexelor imune şi a complementului, ceea ce ar reduce rata hemolizei.

Imunoadsorbţia extracorporală a IgG de către proteina A stafilococică în chip de imunoadsorbant (experimental)

Timectomia – utilizată în AHAI la copil, în forme rezistente la metodele precedente.

❖ ***Terapia transfuzională***

- transfuzia sanguină în AHAI ridică o serie de probleme particulare care pot complica asumarea deciziei transfuzionale. Particularităţile transfuziei la aceşti pacienţi sunt legate de :
  - dificultatea examenelor imuno-hematologice
  - devenirea hematiilor transfuzate în organismul pacienţilor
- examenele imuno-hematologice ridică o serie de probleme la pacienţii cu AHAI :

➢ grupajul sanguin – hematiile pacienţilor cu AHAI pot, uneori, să se aglutineze spontan ceea ce face dificilă realizarea grupajului şi fenotipării eritrocitare;
➢ compatibilizarea sângelui transfuzat – datorită prezenţei autoanticorpilor care reacţionează cu majoritatea eritrocitelor normale, determinarea compatibilităţii pacient-donator este dificilă, reacţia încrucişată între serul pacientului şi hematiile de transfuzat fiind, în

majoritatea cazurilor, pozitiv. În acest context, se preferă transfuzarea sângelui care dă reacţia cea mai slabă;

➢ riscul de alloimunizare – prezenţa auto-anticorpilor poate masca un eventual allo-anticorp antieritrocitar care poate antrena o reacţie de incompatibilitate severă cu risc pentru pacient.

Hematiile transfuzate au, în general, durata de supravieţuire mai scurtă decât a hematiilor proprii, fenomen datorat acoperirii hematiilor proprii cu fracţiunea C3d, forma inactivată a C3b, ceea ce le conferă o protecţie relativă faţă de liză.

Datorită transfuziilor repetate, există riscul supraîncărcării cu fier, ceea ce impune supravegherea periodică a metabolismului fierului şi asocierea tratamentului chelator atunci când necesitatea o impune.

Ţinând cont de toate acestea, politica transfuzională impune respectarea câtorva reguli:

- transfuzia va fi utilizată la minimum, numai în cazuri de toleranţă mediocră sau când este antrenat riscul vital ;
- formele acute vor fi transfuzate doar când hipoxia tisulară pune în joc supravieţuirea pe termen scurt şi nici o medicaţie nu s-a dovedit eficientă ;
- formele cronice vor fi transfuzate numai când se constată o scădere progresivă a hemoglobinei în contextul unor doze terapeutice progresiv crescute din medicamentul utilizat pentru tratament (corticoid, imunosupresor…) ;
- sângele transfuzat trebuie bine compatibilizat cu pacientul;
- trebuie utilizată masă eritrocitară cu fenotip complet corespunzător pacientului;
- sângele trebuie pre-încălzit înainte de administrare în cazul pacienţilor cu anticorpi la rece sau bifazici ;
- transfuzia se va realiza cu viteză mică - un concentrat eritrocitar va fi administrat în 2-4 ore;
- cantitatea de sânge transfuzată trebuie redusă la minimum necesar pentru a ridica nivelul hemoglobinei la valoarea minimă acceptabilă ;
- se va supraveghea periodic apariţia de allo-anticorpi în serul pacienţilor.

b. Strategia terapeutică

Strategia terapeutică depinde de criteriile clinice (vârstă, stare generală, severitatea manifestărilor, caracterul acut sau cronic al hemolizei, de etiologie şi de caracterul imunologic - clasa de anticorpi şi activitatea termică).

Tratamentul AHAI cu anticorpi la cald

Alegerea strategiei terapeutice depinde de severitatea hemolizei.

❖ **În formele uşoare**, cu hemoliză compensată, se impune doar supraveghere prin control periodic, activ.

❖ **În formele moderate** :

- prednison în doză de 1–2 mg/kg/zi, sau alte preparate cortizonice în doză echivalentă;
- criteriile răspunsului terapeutic sunt reprezentate de :
  - reducerea necesarului transfuzional (atunci când este prezent)
  - creşterea nivelului hemoglobinei

  - normalizarea haptoglobinei;
- primele semne de răspuns apar după minimum 3-4 zile, mai frecvent după 7 zile. Răspunsul complet se instalează după 3-4 săptămâni. După normalizarea hemoglobinei se va trece la scăderea progresivă a dozelor de corticoid cu 10 mg la 5-7 zile interval. Scăderea dozelor se poate etala pe un interval de 3-6 luni. Nu se va întrerupe niciodată corticoterapia în mod brusc !!!
- tratamentul cu corticoizi pe durată mai lungă poate antrena câteva complicaţii cu severitate variabilă :
  - alterarea metabolismului hidro-electrolitic cu retenţie hidro-salină şi hipopotasemie →regim hiposodat, hiperproteic, asocierea de potasiu 1 g/zi, în mod sistematic;
  - alterarea metabolismului glucidic cu instalarea diabetului iatrogen → regim hipoglucidic;
  - alterarea metabolismului fosfo-calcic cu osteoporoză şi risc de fractură sau osteonecroze epifizare → prevenţie prin asocierea tratamentului cu calciu şi vitamina D sau tratament secvenţial cu bifosfonate şi calciu;
  - creşterea riscului infecţios, mai ales cu germeni oportunişti;
  - instalarea ulcerului gastro-duodenal cu evoluţie până la perforare → asocierea de protectoare ale mucoasei digestive, asocierea de antisecretorii, antiacide, stimulante ale sintezei de mucus.
- în caz de eşec al corticoterapiei (lipsă de răspuns sau necesitatea dozelor mari de întreţinere) se va recurge la splenectomie. Reprezintă, în majoritatea cazurilor, tratamentul de a doua linie. Splenectomia trebuie precedată de vaccin anti-pneumococic şi anti-*haemophillus influenzae* şi, eventual, urmată de profilaxie antibiotică de durată, *per os*.
- în caz de eşec sau recădere, se poate trece la tratamentul cu imunosupresoare, tratament de linia a III-a. Sunt mai utile în formele secundare asociate hemopatiilor maligne. Se pot utiliza:
  - Azatioprina 2 mg/kg/zi în asociere cu Prednison 1mg/kg/zi timp de 4-6 săptămâni, apoi se continuă cu aceleaşi doze, dar cu reducerea în paliere de 10-5 mg până la oprirea corticoidului într-un interval de 3-4 luni. Ulterior, se scade treptat doza de Azatioprină până la 15 mg/m^2/zi. După 10-12 luni de la debut, se poate trece la tratament intermitent, bisăptămânal.
  - Ciclofosfamida 1-2 mg/kg/zi în asociere cu Prednison în schema de mai sus
  - Vincristina 1mg/m^2 la 3-4 săpămâni.

❖ **In formele severe :**

- în această categorie intră şi formele cu anticorpi de tip IgM, responsabile de hemoliza intravasculară
- se va recurge la tratament corticoid injectabil i.v. Se utilizează Metilprednisolon în doze de 1.000 mg/zi timp de 3 zile sau 500 mg/zi 5 zile sau Dexmetazonă 40 mg/zi 4-5 zile, apoi se va continua cu o formă orală în doze de 1 mg/kg/zi. Se vor asocia transfuzii în caz de necesitate.

- în caz de eşec la 3-4 săptămâni de tratament, se va decide splenectomia sau, în caz de rezistenţă, tratamentul cu imunosupresoare. Se preferă tratamentul cu Ciclofosfamidă în bolus i.v., doze de 600-750 mg/m^2 o dată la 2-4 săptămâni, timp de 6-12 luni.

Tratamentul AHAI cu anticorpi la rece

- prima regulă, şi cea mai simplă, este de evitare a expunerilor la temperaturi scăzute;
- în formele cu hemoliză redusă, relativ bine compensată de producţia medulară, se recomandă administrarea de Acid folic 2 cp/zi, pe termen lung, pentru a evita epuizarea rezervelor în context de hiperconsum medular;
- în formele cu hemoliză severă sau prost tolerată de organism, pe primul plan se află tratamentul imunosupresor şi transfuziile;
- se preferă tratamentul imunosupresor cu agenţi alkilanţi, două produse pot fi utilizate :
  - Clorambucil (Leukeran) – se începe cu doze de 2-4 mg/zi şi se creşte treptat cu 2 mg/zi la 2 luni (sub controlul bisăptămânal al hemogramei complete) până la obţinerea răspunsului sau apariţia toxicităţii medulare;
  - Ciclofosfamida 250 mg/zi p.o. şi Prednison 100 mg/zi, timp de 4 zile, administrate la 2-3 săptămâni interval sau doze de 1.000 mg iv la 4 săptămâni ;
- Interferon alfa este în studiu cu unele rezultate favorabile – se pot folosi doze de 3 MUI x 3/săptămână;
- transfuziile trebuie, pe cât posibil, evitate. Când sunt necesare se va administra sânge preîncălzit la 37^{0}C (folosind dispozitive speciale) în cameră încălzită;
- corticoizii, splenectomia, IgIV nu sunt indicate în această formă, eficacitatea lor este extrem de redusă.

Tratamentul în hemoglobinuria paroxistică la rece

❖ **In forma acută** - tratamentul se bazează în mod esenţial pe corticoizi şi transfuzie:

- corticoizii se folosesc în administrare iv în pulsuri : Metilprednisolon 1.000 mg/zi timp de 3-5 zile apoi per os;
- transfuzia – va utiliza concentrat eritrocitar compatibil de grup pp (deoarece anticorpii sunt anti-P) cu eritrocite spălate pentru a îndepărta restul de plasmă care conţine complement, şi menţinute la cald, la 37^{0}C. De principiu, se recomandă transfuzia în cantităţi mici, suficiente pentru a menţine Ht şi Hb la un nivel tolerabil şi a nu supraîncărcă circulaţia;
- se poate încerca prevenirea activării complementului prin utilizarea de heparină sau IgIV;
- se poate apela la plasmafereză pentru îndepărtarea anticorpilor.

❖ **În forma cronică** - se recomandă evitarea expunerii la frig.

2. ANEMIA HEMOLITICĂ INDUSĂ MEDICAMENTOS

GENERALITĂŢI

- aproximativ 15% din anemiile hemolitice imune dobândite survin în contextul administrării a diferite medicamente (AHI iatrogene);
- aceste tipuri de anemii hemolitice se manifestă ca forme moderate, cu evoluţie benignă, dar s-au semnalat şi cazuri dramatice, unele cu evoluţie fatală. Recunoaştera acestora este foarte importantă pentru că repetarea fenomenelor poate fi prevenită prin evitarea utilizării respectivului medicament;
- unele medicamente antrenează anemii hemolitice autoimune adevărate, prin stimularea sintezei de anticorpi cu specificitate pentru unele structuri din membrana eritrocitară (forme autoimune). Alte medicamente stimulează sinteza de anticorpi cu specificitate pentru medicament, care reacţionează apoi cu membrana eritrocitară în prezenţa medicamentului (forme imunoalergice).

***Tabel* 15**

MEDICAMENTELE ASOCIATE CU ANEMII HEMOLITICE			
Mecanismul autoimun	**Mecanismul neoantigen**	**Mecanismul de adsorbţie imună**	**Mecanismul de adsorbţie nonimună**
Alfa-metildopa	Chinidina	Ampicilină	Cefalosporine de prima
Levodopa	Acetaminofen	Cefaloridină	generaţie
Procainamida	Aminopirină	Cefalotină	
Clorpromazina	Diclofenac	Cisplatin	
Cimetidina	Hidralazin	Eritromicină	
Ibuprofen	Izoniazidă	Oxacilină	
Naproxen	Melfalan	Penicillină	
Streptomycină	Metotrexat	Tetraciclină	
	Penicillină		
	Fenacetină		
	Sulfonamide		

- incidenţa anuală estimată pentru anemiile hemolitice dobândite este de 1/38.000 până la 1/80.000 indivizi. Dintre acestea, cele induse medicamentos ar reprezenta 12-18%.

Mecanismele de inducere a hemolizei de către medicamente:

a) Mecanismul autoimun (de tip alfa-metildopa)

- hemoliza indusă de acest grup de medicamente este una cu adevărat autoimună ;
- în plan clinic survine o anemie hemolitică moderată-severă, dar fără a antrena hemoliză intravasculară;

- manifestările încetează la oprirea administrării medicamentului, dar pot reapărea la reluarea acestuia.

b) Mecanismul neoantigen (tipul Chinină, Chinidină)

- medicamentul se fixează iniţial pe un antigen membranar eritrocitar formând un complex antigenic (neoantigen) care stimulează formarea de anticorpi. Rezultă, astfel, un complex trimolecular care conduce la hemoliză prin fixarea şi activarea complementului;
- este necesară prezenţa doar a unei doze mici de medicament pentru declanşarea fenomenelor;
- hemoliza se instalează brutal, este severă, cu hemoliză intravasculară, hemoglobinurie, insuficienţă renală.

c) Mecanismul de adsorbţie a medicamentului (tipul Penicilină)

- a fost denumit şi mecanismul de aglutinare pasivă ;
- Penicilina se leagă covalent la membrana eritrocitară. Când se administrează doze mari de medicament (peste 10 MUI/zi), acesta poate induce sinteza de IgG anti-penicilină. Anticorpul se cuplează cu medicamentul fixat pe membrana eritrocitară antrenând distrugerea acesteia – captare în macrofagele splenice. În foarte rare cazuri, anticorpul fixează şi complementul, putând determina liză directă;
- reacţia survine la mai puţin de 3% din cei care primesc doze mari. Hemoliza se dezvoltă după 7-10 zile de administrare. Manifestările sunt moderate, dar pot deveni severe dacă se continuă medicamentul;
- imunologic – testul Coombs direct este pozitiv pentru IgG şi poate rămâne aşa pentru câteva săptămâni de la oprirea tratamentului.

d) Mecanismul nonimunologic de adsorbţie proteică

- Cefalosporinele de primă generaţie pot altera membrana eritrocitară favorizând adsorbţia la suprafaţa sa a numeroase proteine ca fibrinogen, albumine, imunglobuline şi complement. Prezenţa lor face ca testul Coombs direct să fie pozitiv fără ca aceasta să fie însoţită de hemoliză. Testul Coombs indirect este negativ.
- Atenţie – cefalosporinele pot antrena hemoliză prin mecanismele b şi c.

TRATAMENT

Se impune recunoaşterea unei reacţii de hemoliză induse medicamentos, din două puncte de vedere : 1) oprirea tratamentului poate duce la stoparea hemolizei; 2) evitarea administrării ulterioare a medicamentului previne recidiva hemolizei. Adesea, oprirea medicamentului este suficientă. În cazurile severe, persistente, se recomandă utilizarea corticoizilor (p.o. sau injectabil, în funcţie de severitate) şi a transfuziilor care nu pun problemele de compatilizare întâlnite în AHAI cu anticorpi la cald sau la rece.

3. ANEMIILE HEMOLITICE ALLOIMUNE

Au fost descrise două tipuri de anemii hemolitice alloimune : 1) boala hemolitică perinatală şi 2) reacţiile hemolitice post-transfuzionale.

BOALA HEMOLITICA PERINATALA

INTRODUCERE

- boala hemolitică perinatală se manifestă la făt sau la noul-născut de fiecare dată când survine un conflict imunologic în organismul acestuia, între un anticorp de origine maternă şi un antigen eritrocitar fetal, reacţie denumită incompatibilitate feto-maternă ;
- numeroase antigene eritrocitare pot fi implicate, dar cele mai frecvent observate aparţin sistemului Rhesus (Rh). În acest sistem există trei perechi de antigene, determinate genetic : Cc, D(d), şi Ee. Prezenţa sau absenţa determinantului antigenic D (nu există determinant antigenic d) determină statutul Rh pozitiv sau respectiv negativ al fiecărui individ. Producerea de anticorpi ani-D în organismul unei femei Rh negative şi trecerea lor transplacentară în organismul fătului Rh pozitiv poate declanşa un proces hemolitic.

PATOGENIE

- imunizarea Rh survine, în marea majoritate a cazurilor, la femeile Rh negative care au avut cel puţin o sarcină în antecedente, cu făt Rh pozitiv;
- în timpul sarcinii are loc o trecere transplacentară a eritrocitelor fetale Rh(D) positive în circulaţia maternă, fenomen denumit de Darrow ca hemoragie fetală transplacentară. Aceasta poate avea loc în cursul sarcinii, la naştere sau în cursul avorturilor spontane sau provocate;
- eritrocitele D pozitive ajunse în circulaţia maternă vor declanşa un răspuns imun primar sau secundar:
  - ❖ răspunsul imun primar se dezvoltă lent, având nevoie de minimum opt săptămâni până la 6 luni. Răspunsul primar este slab şi dă naştere la anticorpi anti-D de tip IgM care nu trec placenta. Ulterior, producţia se converteşte la IgG.
  - ❖ răspunsul secundar survine la o nouă expunere antigenică, ceea ce conduce la creşterea rapidă a producţiei de anticorpi, de tip IgG care trec bariera placentară către organismul fetal.
- anticorpii anti-D materni trec în circulaţia fetală, unde se vor fixa pe antigenele de pe membrana eritrocitară. Aceşti anticorpi nu fixează complementul, dar se ataşează de receptorul pentru Fc de pe macrofagele splenice. Astfel, eritrocitele sunt sechestrate şi fagocitate integral sau parţial.

MANIFESTĂRI

Au fost descrise trei forme de manifestare, în funcţie de severitatea procesului hemolitic şi a celui compensator. Severitatea bolii depinde de cantitatea de anticorpi produsă de organismul matern, de aviditatea anticorpului pentru antigenul corespunzător, de capacitatea organismului fetal de a reacţiona la anemia rezultantă.

1. Forma uşoară

Este semnalată la aproximativ 50% din cei afectaţi. Anemia este uşoară, cu valori ale Hb din cordonul ombilical de 12-13 g/dl. Hiperbilirubinemia indirectă se menţine sub pragul periculos, la valori între 16 şi 20 mg/100 ml. Nu necesită tratament.

2. Forma moderată

Se manifestă la 25-30% dintre copiii afectaţi. Hiperbilirubinemia indirectă este suficient de importantă pentru a impune terapie, dar, în cursul vieţii fetale, mare parte este epurată prin organismul matern. În perioada post-natală, bilirubina indirectă rămâne în exces, depăşeşte capacitatea de legare a albuminei (proteina transportoare) şi, fiind liposolubilă, va difuza rapid în ţesuturi. Va difuza cu preferinţă în neuroni, unde perturbă funcţia mitocondrială şi determină moarte neuronală (icter nuclear/encefalopatie bilirubinică). În absenţa tratamentului adecvat, se instalează letargie, hipertonicitate musculară cu poziţie vicioasă în opistotonus. Suptul este afectat, dispar reflexele Moro, apar convulsiile. În final se instalează apneea cu *exitus*. Supravieţuirea se poate face cu sechele neurologice : surditate, paralizie cerebrală spastică coreoatetozică, retard intelectual.

Pe de altă parte, organismul este capabil să compenseze anemia şi să menţină un nivel adecvat al Hb fetale.

3. Forma severă

Survine la 20-25% din cazuri la care hemoliza este intensă cu hiperbilirubinemie neconjugată majoră şi cu anemie care nu mai poate fi compensată în ciuda eritropoiezei extramedulare. Aceasta va afecta, predominant, ficatul cu alterări arhitectonice, distorsiunea cordoanelor hepatocelulare şi a vascularizaţiei. Rezultă alterare funcţională majoră, hipoalbuminemie severă. Anemia şi hipoalbuminemia vor antrena edeme şi serozită generalizată-anasarcă (hidrops fetal). Aceasta survine în săptămânile 18-34 de sarcină sau mai tardiv, în săptămânile 34-40.

Hidropsul fetal va avea drept consecinţă moartea fetală, în 20-25% din cazuri sau în cazul în care supravieţuieşte până la naştere, nou-născutul va deceda la scurt timp după.

TRATAMENT

Obiectivele tratamentului în aceste cazuri sunt :

- ante-natal – diminuarea nivelul anticorpilor materni dirijaţi împotriva antigenelor fetale şi evitarea decesului anemic al fătului ;
- post-natal – prevenirea apariţiei icterului nuclear.

a. Tratamentul ante-natal

➢ pentru diminuarea nivelului anticorpilor materni (a procesului de imunizare), două metode terapeutice şi-au demonstrat utilitatea :

- schimburi plasmatice repetate – pot reduce nivelul anticorpilor cu peste 75%. Se realizează prin înlocuirea plasmei materne cu plasmă de la donator şi parţial cu albumină şi imunglobuline intra-venos;

- imunglobuline G intravenoase – administrarea în doze mari va realiza un feed-back negativ pentru producţia maternă de IgG şi deci şi de allo-anticorpi, pe de o parte, va realiza reducerea transferului transplacentar de IgG prin saturarea receptorilor Fc trofoblastici şi reducerea captării reticuloendoteliale fetale prin saturarea receptorilor Fc macrogagici, pe de altă parte.

➢ prevenirea decesului anemic al fătului

- stimularea naşterii premature – permite sustragera fătului incompatibil acţiunii anticorpilor materni cu evitarea agravării şi evoluţiei letale;
- transfuzia fetală - se poate realiza intraperitoneal (eritrocitele introduse în cavitatea peritoneală a fătului sunt absorbite în circulaţie) sau direct intravascular.

b. Tratamentul post-natal – tratamentul de bază este exsanguino-transfuzia.

- constă în înlocuirea aproape integrală a sângelui copilului cu un sânge compatibil cu cel matern;
- se recomandă sânge compatibil ABO şi Rh negativ, eventual Kell negativ;
- procedeul permite corectarea valorii hemoglobinei, corectând anemia severă cu risc letal, şi previne hiperbilirubinemia indirectă prin îndepărtarea hematiilor incompatibile şi prin îndepărtarea bilirubinei deja formate;
- exsanguino-transfuzia este indicată prompt atunci când Hb este sub 110 g/l sau bilirubina serică este peste 5,5 mg/dl la nou-născutul la termen şi peste 4 mg/dl la prematur.

Alte tratamente :

➢ Combaterea riscului icterului nuclear se va face prin reducerea bilirubinemiei indirecte:

- fototerapia – utilizează lumina albastră care produce doi izomeri ai bilirubinei indirecte : fotobilirubina, compus netoxic, hidrosolubil care se elimină pe cale biliară, şi lumirubina, isomer stabil eliminat rapid pe cale biliară şi renală
- fenobarbitalul – administrat ca inductor enzimatic, este mai puţin eficace.

➢ Tratamentul insuficienţei cardiace

- Digoxin în doze mici pentru digitalizare
- Furosemid – 1 mg/kg o dată sau de două ori pe zi.

c. Prevenirea alloimunizării

Injectarea la femeile Rh negative, neimunizate, de anticorpi anti-D sub formă de imunglobuline preparate prin fracţionarea plasmei immune cât mai repede (sub 72 ore) de la naşterea sau avortarea unui produs de concepţie Rh pozitiv, poate reduce dramatic riscul imunizării. Anticorpii reacţionează cu eritrocitele materne împiedicând accesul la sistemul imunitar al mamei. Doza administrată este de 100 µg intravenos sau 300 µg intramuscular.

Tratamentul preventiv este indicat în cazul femeilor Rh negative neimunizate supuse unui contact imunizant. El trebuie reluat la fiecare sarcină în doze de 100 µg la fiecare 6-8 săptămâni până la naştere.

2. Anemia hemolitică post-transfuzională

Vezi capitolul Transfuziile.

TRANSFUZIILE

TRANSFUZIA DE SÂNGE ŞI PRODUSE SANGUINE : INDICAŢII, COMPLICAŢII

- Produsele derivate de sânge cuprind
  - produsele sanguine labile, obţinute prin separarea primară a elementelor din sânge şi
  - produsele sanguine stabile (sau medicamentele derivate din sânge) care sunt derivate din plasmă prin fracţionare.
- Produsele sanguine labile sunt
  - concentratele eritrocitare,
  - concentratele trombocitare,
  - plasma proaspată congelată şi
  - concentratele granulocitare.
- Produsele sanguine stabile sunt
  - fracţiunile coagulante,
  - imunoglobulinele umane şi
  - albumina.

GENERALITĂŢI

Donarea şi colectarea de sânge

- Donarea de sânge este un act benevol, altruist şi neremunerat.
- Procesul de selectare a donatorilor are două scopuri esenţiale :
  - protejarea sănătăţii donatorului cu eliminarea oricărui risc potenţial pentru acesta, în procesul de donare de sânge şi
  - protejarea primitorului faţă de orice risc de transmisie a unor agenţi infecţioşi cu minimalizarea riscului altor efecte adverse.
- Potenţialii donatori trebuie să îndeplinească câteva condiţii prealabile de vârstă, greutate, semne vitale, valoarea hemoglobinei.
- Prelevarea sângelui se va face în condiţii de asepsie, în recipiente de plastic sterile conţinând anticoagulant. Volumul de sânge prelevat trebuie măsurat şi trebuie amestecat treptat cu anticoagulantul în timpul colectarii.
- Frecvenţa de donare acceptată este de 450-500 ml de sânge o dată la opt săptămâni.
- După recoltare, sângele este testat pentru antigenul de suprafaţă al virusului hepatitei B (AgHBs), anticorpii anti-virusului hepatitei C, HIV-1, HIV-2, HTLV-I, testul serologic pentru sifilis, nivelul transaminazelor.
- Sângele şi componentele sale nu trebuie eliberate pentru administrare decât după ce toate testele pentru agenţii infecţioşi sunt negative, ceea ce poate antrena un interval de până la 24 de ore între colectare şi transfuzie.

GRUPELE SANGUINE, LEUCOCITARE SI TROMBOCITARE

A – Sistemele de grupe sanguine eritrocitare

1. Sistemul AB0

- Defineşte antigenele prezente pe suprafaţa eritrocitelor, leucocitelor şi numeroase ţesuturi (ţesutul conjunctiv, sistemul nervos central).

a) Fenotip şi genotip

- Există patru fenotipuri clasice : A, B, AB şi 0.
- Există trei gene A, B şi 0 care codează glicozil-transferaze responsabile de transferul de zaharuri pe substanţa H :
  - Gena 0 codează o enzimă nefuncţională. Pacienţii cu genotip 00 (fenotip 0) exprimând antigenul H netransformat.
  - Gena A codează o enzimă responsabilă de glicozilarea antigenului H în antigen A. Pacienţii cu genotip A0, 0A sau AA (fenotip A) exprimă antigenul A.
  - Gena B codează o enzimă responsabilă de glicozilarea antigenului H în antigen B. Pacienţii cu genotipurile B0, 0B sau BB (fenotip B) exprimă antigenul B.
  - Pacienţii cu genotip AB sau BA (fenotip AB) exprimă ambele antigene A şi B.
- Absenţa antigenului H determina fenotipul excepţional Bombay, subiect (hh).

b) Anticorpii sistemului AB0

- Sunt anticorpi naturali şi regulaţi, prezenţi în mod constant la toţi indivizii cu acelaşi grup. Apar la copil înainte de 6 luni în afara oricărei imunizări.
- Subiectul are, în serul său anticorpi dirijaţi împotriva antigenelor pe care nu le posedă :
  - Grup A : prezenţa de anticorpi anti-B
  - Grup B : prezenţa de anticorpi anti-A
  - Grup 0 : prezenţa de anticorpi anti-A şi anti-B
  - Grup AB : absenţa anticorpilor anti-A şi anti-B
- Aceşti anticorpi sunt IgM. *In vitro*, sunt aglutinanţi, dar puţin hemolizanţi. *In vivo,* sunt prezenţi în titru ridicat (> 64) şi hemolizat (hemoliză intravasculară).

Tabel **16**

Fenotip	Genotip	Antigene	Anticorpi	Frecvenţa
A	AA, A0	A	anti-B	45 %
B	BB, B0	B	anti-A	9 %
AB	AB	A şi B	Nici unul	3 %
0	00	Nici unul	anti-A şi anti-B	43 %

c) determinarea grupului AB0

- Grupul este determinat cu ajutorul a două probe diferite care utilizează metode de aglutinare a eritrocitelor de către anticorpii specifici :

  - Proba globulară - detectează, cu ajutorul unor seruri test, expresia antigenelor AB0. Se utilizează anticorpi anti-A, anti-B, anti-AB şi eritrocite obţinute de la pacientul la care se determină grupul sanguin.
  - Proba plasmatică - determină, cu ajutorul eritrocitelor test (A,B), prezenţa şi natura anticorpilor naturali regulaţi din plasma pacientului la care se determină grupul sanguin.
- Aceste două determinări trebuie să dea rezultate concordante care definesc fenotipul.

d) Reguli transfuzionale de compatibilitate AB0

- Dacă se transfuzează eritrocite purtătoare de antigen A (sau B) la un pacient cu anticorpi anti-A (sau anti-B), are loc o hemoliză acută intravasculară.
- O transfuzie este identică pe plan imunologic atunci când donatorul şi primitorul au acelaşi grup AB0.
- Unele transfuzii nu sunt identice immunologic, dar sunt compatibile (în absenţa anticorpilor corespunzători) :
  - Donator 0 (donator universal) şi primitorii A, B sau AB.
  - Donator A sau B şi primitor AB (primitor universal).
- De regulă, se transfuzează în izogrupul AB0.

2. Sistemul Rhesus

a) Antigenele sistemului Rhesus

- Este sistemul cel mai frecvent implicat în accidentele de allo-imunizare.
- Există 5 antigene clasice care sunt, în ordinea imunogenităţii : D (RH1), C (RH2), E (RH3), c (RH4), e (RH5).
- Este denumit Rhesus pozitiv un subiect care posedă antigenul D (RH1, 85 %) şi Rhesus negativ un subiect care nu posedă antigenul D (RH-1, 15 %).
- Expresia antigenelor Cc (RH2,4) şi Ee (RH3,5) este codominantă.
- Aceste antigene sunt asociate în mod diferit pe membrana eritrocitară, creând numeroase fenotipuri dintre care cele mai frecvente sunt : DCce (RH1,2,-3,4,5 : 34%), DCe (RH1,2,- 3,-4,5 : 20 %).

b) Anticorpii sistemului Rhesus

- Nu sunt anticorpi naturali.
- Sunt anticorpi imuni dobândiţi de subiecţii care nu posedă antigenul, fie după o transfuzie, fie după o imunizare feto-maternă (anticorpi neregulaţi).

c) Determinarea grupului în sistemul Rhesus

- Nu va fi considerat definitiv decât după ce au fost realizate două determinări succesive plecând de la două prelevări.
- Se utilizează seruri imune anti-D, anti-C, anti-E, anti-c, anti-e. Se pun serurile în prezenţa eritrocitelor de la pacientul la care se face gruparea pentru o reacţie de aglutinare la 37°C (proba globulară). Se obţine astfel fenotipul eritrocitar.
- La un nivel minim, se realizează numai fenotipajul D.

d) Căutarea anticorpilor neregulaţi : căutarea de aglutinine neregulate.

- Inainte de orice transfuzie, trebuie realizată sistematic căutarea anticorpilor neregulaţi.
- Se pun împreună : serul de la pacient (primitorul) cu un panel de eritrocite cu structură antigenică cunoscută, printr-o metodă de aglutinare la 37°C (proba serică).
- Se pot astfel descoperi anticorpi anti-D (subiect D-), anti-E (subiect E-), anti-c (subiect c-), anti-e (subiect e-) anti-C (subiect C-).

e) Reguli transfuzionale în sistemul Rhesus

- Este interzis să se transfuzeze sânge Rhesus pozitiv (D+) la un subiect negativ (D-). Există riscul de allo-imunizare (achiziţia unui anticorp anti-D).
- Se poate transfuza sânge Rhesus negativ (D-) la un primitor Rh+ (D+).
- În practică, se transfuzează iso-Rhesus.
- Este preferabil să se transfuzeze sânge fenotipat compatibil (în Cc şi Ee). Acest lucru este indispensabil în următoarele circumstanţe :
    - subiecţi politransfuzaţi cronic;
    - femei susceptibile de a fi gravide sau cu mai multe sarcini în antecedente.

3. Sistemele imunogene, altele decât sistemele AB0 şi Rh

a) Sistemul Kell

- în acest sistem, numai antigenul Kell (KEL1) are o importanţă transfuzională
- 90 % din populaţie este Kell negativă
- apariţia la subiecţii K -, după transfuzie sau sarcină de anticorpi anti-K, este frecventă. Anticorpii anti-k (KEL2) sunt mai rari.
- trebuie realizată deci o prevenire a allo-imunizării la subiecţii cu risc. Problematica este similară cu sistemul Rh şi de aceea determinarea fenotipului Kell face parte din determinarea fenotipului eritrocitar standard.
- la subiecţii cu risc se va transfuza sânge compatibil în sistemul Kell.

b) Celelalte sisteme au mai puţină importanţă în practica curentă

- este vorba de sistemele Duffy, Kidd, MNSs, P şi Lewis
- imunizările sunt mai rare
- se supraveghează apariţia anticorpilor neregulaţi în cadrul acestor sisteme la pacienţii politransfuzaţi

B – Grupele leucocitare şi plachetare

1. Antigenele sistemului HLA

- Antigenele HLA sunt ubicuitare în organism :
    - Leucocitele (mai ales limfocitele) şi trombocitele posedă pe membrana lor antigenele HLA de clasa I : HLA-A şi HLA-B (într-o proporţie mai mică HLA-C). Acestea sunt de altfel prezente pe cvasi-totalitatea celulelor nucleate din organism.
    - Ag HLA de clasa a II-a (în special DR) sunt absente pe trombocite şi nu sunt prezente decât pe limfocitele B, limfocitele T activate şi celulele prezentatoare de antigen (monocite/macrofage, celule dendritice).

- Anticorpii anti-HLA apar după :
    - transfuzia de concentrate eritrocitare (nedeleucocitat), de trombocite, de leucocite
    - sarcina
    - grefa de organ
- Anticorpii anti-HLA pot fi responsabili de :
    - ineficacitate transfuzională pentru transfuziile trombocitare
    - reacţii de tip frisoane-hipertermie
    - edem pulmonar acut
- Căutarea de anticorpi anti-HLA este recomandată :
    - înaintea unei prime transfuzii de concentrate trombocitare la toate persoanele care au fost expuse la un risc de allo-imunizare
    - după o primă transfuzie de trombocite
    - în prezenţa unei simptomatologii evocatorii de allo-imunizare anti-HLA
- Deleucocitarea sistematică a produselor sanguine din 1998 a permis o diminuare a incidenţei allo-imunizărilor anti-HLA.

2. Antigenele plachetare

- Principalul sistem imunogen cu rol în transfuzia trombocitară este sistemul PLA1/PLA2 (allele ale genei codante pentru receptorul GPIIIa pentru factorul von Willebrand)
    - Antigenul PLA1 este un antigen comun, prezent la 97,5 % dintre subiecţi.
    - Antigenul PLA2 este prezent la 30 % dintre subiecţi.
- Subiecţii PLA2/PLA2 reprezintă 2,5 % din populaţie. Aceşti subiecţi pot dezvolta (după o transfuzie sau o sarcină) allo-anticorpi anti-PLA1.

TRANSFUZIILE ERITROCITARE.

1. Produsele eritrocitare transfuzabile

- Produsele eritrocitare transfuzabile sunt obţinute fie plecând de la o unitate de sânge total, fie cu ajutorul unui separator de celule. Produsele conţin anticoagulant.
- Concentratele eritrocitare conţin cel putin 40 g hemoglobină, într-un volum de aproximativ 250 ml. Timpul maxim de conservare este de 42 zile la 4°C.

Sângele integral

- conţine eritrocite, proteine plasmatice şi factori stabili ai coagulării
- o unitate de sânge integral are un volum de aproximativ 510 ml corespunzând la 450 ml sânge integral şi 63 ml anticoagulant/conservant
- poate fi conservat 35 zile
- poate asigura concomitent o creştere a transportului de oxigen (eritrocite), a presiunii oncotice (proteine plasmatice) şi a unor factori ai coagulării, dar indicaţiile sale sunt astăzi restrânse la pacienţii cu pierderi masive şi rapide de sânge (traumatisme, intervenţii chirurgicale sângerânde)

- are dezavantajul de a antrena supraîncărcare volumică

Concentratele eritrocitare

- sunt preparate dintr-o unitate de sânge integral prin sedimentare sau centrifugare şi îndepărtarea plasmei, sau prin separarea totală de plasmă
- sunt indicate în situaţiile de anemie cu necesar de creştere a capacităţii de transport al oxigenului, mai ales la pacienţi care nu tolerează încărcarea vasculară

Concentratele eritrocitare deleucocitate

- sunt concentrate eritrocitare la care s-a redus numărul de leucocite conţinute pe unitate. O unitate normală conţine aproximativ 2-5 x 10^9 leucocite.
- deleucocitarea se realizează prin centrifugarea unităţii, apoi prin răcire şi filtrare cu îndepărtarea leucocitelor care formează microagregate → se asigură menţinerea a cel puţin 80 % din eritrocite şi reducerea leucocitelor la 3-5 x 10^6
- sunt indicate pentru prevenirea
    - allo-imunizării anti-HLA
    - transmiterii virusurilor intraleucocitare (VIH, HTLV, CMV)
    - reacţiilor tip frison-hipertermie

Eritrocitele spălate

- spălarea se poate face manual sau automat folosind soluţii saline izotone. Procesul asigură îndepărtarea plasmei şi a unui procent de leucocite (rămân 5 x 10^8)
- sunt indicate în :
    - profilaxia reacţiilor alergice severe la primitori care posedă anticorpi dirijaţi împotriva unor proteine din plasma donatorului (ex. pacienţii cu deficit congenital în IgA care pot dezvolta anticorpi anti-IgA)
    - hemoglobinuria paroxistică nocturnă. Spălarea duce la îndepărtarea complementului cu evitarea stimulării hemolizei

Eritrocitele iradiate

- se obţin prin iradierea concentratului eritrocitar, fie cu raze gamma, minimum 2.500 cGy, fie cu raze ultraviolete B (UVB), ceea ce duce la inactivarea limfocitelor imunocompetente de la donator
- obiectivul principal îl constituie prevenirea reacţiei grefă-contra-gazdă post-tranfuzională care poate surveni la primitorii imunodeprimaţi
- indicaţii :
    - deficit imun celular congenital
    - grefa de celule suşă hematopoietice autologe sau allogene
    - prelevarea de celule suşă hematopoietice autologe
    - unele polichimioterapii intensive (inducţia în LA)
    - transfuzie intrauterină, exanguino-transfuzia la noul-născut,
    - donarea dirijată intrafamilială

Eritrocitele congelate

- se obţin prin congelare la –65 - -80^{0}C
- pot fi conservate până la 21 ani cu menţinerea de până la 80 % din celulele viabile
- eritrocitele congelate se reîncălzesc la 37^{0}C, apoi sunt spălate cu soluţii saline iniţial hipertone, apoi cu tonicitate treptat scăzută pentru îndepărtarea conservantului
- sunt indicate în păstrarea unei rezerve de eritrocite pentru primitorii cu grup rar sau pentru cei cu multipli allo-anticorpi

Eritrocitele CMV negativ :

- această calificare se referă la produsele provenind de la donatori a căror serologie este negativă în momentul donării
- deleucocitarea previne parţial riscul de contaminare cu acest virus intraleucocitar
- indicaţiile sunt :
    - allografa de celule suşă hematopoietice, dacă donatorul şi primitorul sunt CMV- (înainte şi după grefă)
    - femeile gravide CMV-, prematuritate (< 32 săptămâni) dacă mama este CMV-
    - primitorii de grefă pulmonară

2. Indicaţii

• Scopul transfuziilor eritrocitare este de a corecta hipoxia secundară unei diminuări a hemoglobinei, transportorul de oxigen. Nu este indicată decât pentru a trata sau preveni semnele de suferinţă celulară legate de hipoxie-anoxie.

a) In caz de anemie acută (hemoragie sau hemoliză acută)

- Transfuzia eritrocitară participă şi la menţinerea volemiei (spoliere sanguină sau vasoplegie).
- Decizia de a transfuza ţine cont de mai mulţi parametri :
    - nivelul de Hb
    - viteza de instalare a anemiei (de sângerare, de hemoliză…)
    - toleranţa clinică, ce depinde de terenul pe care survine anemia
- Pragul transfuzional în Hb admis în mod curent este de :
    - 7 g/dl la pacienţii fără antecedente
    - 8-9 g/dl la pacienţii cu antecedente cardiovasculare
    - 10 g/dl la pacienţii care nu tolerează valori mai mici sau care au o insuficienţă coronariană acută sau o insuficienţă cardiacă
- In contextul unei intervenţii chirurgicale cu risc hemoragic ridicat şi programabil, trebuie avută în vedere o transfuzie autologă programată.
- In anemiile hemolitice, transfuziile pot fi indicate în crizele aplastice sau când valorile foarte scăzute devin simptomatice. Decizia trebuie bine argumentată şi transfuzia bine supravegheată datorită frecvenţei crescute a anticorpilor anti-eritrocitari. În general, la pacienţii cu anemie hemolitică cu aglutinine la rece, eficacitatea transfuzională este redusă.

b) In caz de anemie cronică

- Indicaţiile depind, mai ales, de toleranţa clinică care este în funcţie de :
  - gradul de vechime a anemiei
  - de teren
- Pragurile transfuzionale admise în mod curent sunt :
  - 10 g/dl la pacienţii cu patologii cardio-pulmonare care nu tolerează o valoare inferioară
  - 8 g/dl la pacienţii limitaţi în activitatea lor, la pacienţii cu antecedente cardio-vasculare şi la cei peste 65 ani
  - 6 g/dl la orice pacient, cu excepţia etiologiilor tratabile (anemii carenţiale...).
- Pacienţii cu aplazii sau hipoplazii medulare, ca şi cei cu sindroame mielodisplazice necesită transfuzii periodice cu frecvenţă variabilă, transfuzii care pot antrena apariţia de allo-imunizări şi supraîncărcare cu fier. La aceşti pacienţi, eritropoietina ar putea reduce necesarul transfuzional.
- Pacienţii cu neoplazii hematologice şi nehematologice prezintă adesea anemie fie prin evoluţia bolii, fie ca o complicaţie post-chimio sau radioterapie, alături de neutropenie şi trombocitopenie. Indicaţia de transfuzie se bazează pe toleranţa clinică.

3. Modalităţi

a) Elementele bilanţului pre-transfuzional

- Căutarea antecedentelor:
  - situaţiile cu risc de allo-imunizare (sarcini, transfuzii, grefe)
  - reacţii transfuzionale
- Informarea pacientului (sau a reprezentantului legal) referitor la :
  - natura transfuziei, posibilitatea de transfuzie programată autologă
  - riscuri transfuzionale (un consimţamânt scris nu este obligatoriu)
- Prescrierea examenelor pre-transfuzionale :
  - grup AB0 şi Rhesus D (RH1) : dubla determinare pe două probe distincte.
  - fenotipare completă la nevoie (Rhesus complet (CcEe), Kell şi uneori Kidd, Duffy, MNSs)
  - căutarea de aglutinine neregulate datând de cel puţin 72 ore de la transfuzie
- Serologii virale : HIV (cu acordul pacientului), VHC şi nivel transaminaze

b) Prescrierea transfuziei

- verificarea elementelor bilanţului pre-transfuzional (informare pacient, bilanţ pre-transfuzional)
- prescripţia individuală care trebuie să cuprindă :
  - identificarea pacientului, serviciului, medicului prescriptor (nume, semnatură)
  - data şi ora
  - indicaţia transfuziei

- natura (transformarea/calificarea) şi numărul de unităţi CE solicitate. La adult, transfuzia unei unităţi de CE corectează nivelul Hb cu aproximativ 1 g/dl. Prescripţia medie este de de 2 CE.
- cartea de grup validă şi rezultatele căutării de aglutinine neregulate sunt alăturate prescripţiei

c) Realizarea transfuziei

- Transfuzia trebuie realizată în primele 6 ore de la sosirea produselor în serviciu.
- Verificările pre-transfuzionale ultime la patul bolnavului :
  - *controlul concordanţei de identitate* (prescripţie, fişa de distribuţie a produsului şi grupul sanguin al pacientului), şi *al grupelor sanguine* (carte de grup şi grup sanguin indicat pe punga cu produs)
- *Control ultim al compatibilităţii AB0* printr-o probă din sângele pacientului amestecat cu cel din punga de transfuzat (concordanţa profilelor de aglutinare de către serul anti-A, anti-B şi anti-A/B).
- Transfuzia ca şi eventualele complicaţii sunt notate în foaia de observaţie a pacientului.
- Sângele va fi administrat în condiţii de perfectă asepsie, cu ajutorul unor perfuzoare dotate cu filtru pentru reţinerea microagregatelor leuco-plachetare ce se formează în cursul stocării.
- Administrarea se va face sub monitorizare clinică atentă, mai ales în primele 15 minute, pentru depistarea primelor semne ale unei potenţiale reacţii secundare severe. Debitul de administrare în acest interval va fi de 5 ml/min.
- O unitate de sânge se administrează în interval de 1 – 2 ore, fără a depăşi 4 ore, acest fapt crescând riscul proliferării bacteriene în recipientul de administrare.
- Nu se va introduce în recipient nici o altă medicaţie cu excepţia serului fiziologic, albuminei, fracţiilor proteice plasmatice. Nu se vor adăuga la sânge soluţie Ringer lactat sau alte soluţii conţinând calciu, acestea putând declanşa coagulare.
- Înainte de administrare, sângele trebuie încălzit la temperatura corpului, fără a depăşi 38^0C, pentru a evita producerea de aritmii sau stop cardiac.
- În cazul pacienţilor cu decompensare cardiacă, administrarea sângelui se va face cu prudenţă, mai lent şi, de preferat, cu retragerea unui volum echivalent din sângele pacientului, eventual administrarea de diuretice.

4. Supraveghere post-transfuzională

a) Supravegherea imediată cuprinde

- supravegherea randamentului transfuzional prin hemogramă (nesistematic)
- supravegherea accidentelor transfuzionale imediate sau întârziate (hemolize, infecţie, allo-imunizare)
- supravegherea complicaţiilor pe termen lung : încărcare cu fier (hemocromatoză secundară, infecţie virală…)

b) La externare, pacientul trebuie sa primească :

- o informare orală asupra produselor transfuzate în cursul spitalizării

- un recapitulativ scris a produselor transfuzate
- o prescriere de analize ce trebuie realizate la 4 luni de la transfuzie :
    - serologii virale : VIH, VHC, Ac anti-HBc, Ag HBs
    - nivelul de transaminaze
    - căutare de aglutinine neregulate

TRANSFUZII TROMBOCITARE

Transfuzia plachetară reprezintă adesea o opţiune terapeutică salvatoare pentru pacienţii cu manifestări hemoragice impresionante, în contextul unei trombocitopenii majore sau al unei trombocitopatii. Dezvoltarea tehnicilor de separare a trombocitelor din sângele integral a constituit un progres hotărâtor în terapia de susţinere a pacienţilor hemato-oncologici, mai ales a celor cu leucemie acută, permiţând diminuarea riscului hemoragic datorat trombopeniei secundare bolii sau tratamentului şi intensificarea terapiilor aplaziante.

1. Diferitele tipuri de produse

a) Două tipuri de concentrate trombocitare

➢ ***Concentratele trombocitare standard = CTS :***

- plecând de la o donare de sânge de 500 ml, se obţine prin centrifugare o unitate trombocitară ($0,5 \times 10^{11}$ trombocite)
- trombocitele se conservă la 22°C, timp de 48 ore maximum : trombocite proaspete
- pentru a reuni cantitatea suficientă de trombocite, trebuie amestecate trombocitele de la mai mulţi donatori. Consecinţa va fi că numărul de antigene rezultante este important şi, deci, şi riscul de imunizare în sistemul HLA este important

➢ ***Concentratele trombocitare de afereză (concentratele trombocitare unitare) = CTU:***

- un concentrat trombocitar unitar este obţinut de la un singur donator prin citafereză. Se obţine, într-o singură şedinţă, o cantitate echivalentă cu aproximativ 5-10 unităţi trombocitare standard
- interesul este de a :
    - diminua riscul de contaminare cu agenţi infecţioşi transmisibili
    - selecţionarea unui donator compatibil în caz de allo-imunizare anti-HLA sau PLA

b) Transformarea concentratelor trombocitare

- Aceste transformări şi indicaţiile lor sunt apropiate de cele ale CE :
    - *deleucocitarea*
    - *iradierea* previne apariţia unei boli grefă contra gazdă post-transfuzionale
    - *crioconservarea* permite o păstrare mai îndelungată a CTU cu fenotip rar.

2. Indicaţii

a) Indicaţiile "curative"

- Transfuziile trombocitare sunt necesare în cazul pacienţilor cu trombocitopenie (indiferent de mecanism) sau trombocitopatie, care prezintă hemoragii a căror abundenţă sau localizare pun în joc prognosticul vital.
- Transfuziile trebuie repetate în funcţie de gravitatea situaţiei şi eficacitatea transfuzională, aceasta având scopul de a menţine cifra trombocitară peste $50.000/mm^3$.
- Semnele clinice care indică necesitatea transfuziei sunt :
    - hemoragie exteriorizată, bulă hemoragică bucală
    - purpură peteşială extensivă
    - hematom extensiv sau compresiv
    - hemoragie retiniană la examenul fundului de ochi
    - prezenţa de semne neurologice focale, tulburări ale stării de conştienţă, sdr meningian

b) Indicaţiile preventive

- Principalele indicaţii preventive sunt trombocitopeniile de cauză centrală cu risc hemoragic crescut. Principalele patologii sunt :
    - aplaziile
    - hemopatiile maligne
    - tumorile solide
    - mielodisplaziile
- In situaţiile de risc, trebuie ca cifra trombocitară să fie menţinută:
    - $> 10.000/mm^3$ în absenţa unui factor de risc
    - $> 20.000/mm^3$ în caz de febră, infecţii, HTA, leziuni cu potenţial hemoragic (mucită)
    - $> 50.000/mm^3$ în caz de :
        - intervenţie chirurgicală
        - gest invaziv (biopsie, puncţie lombară, punerea de cateter central, endoscopie cu biopsie, extracţie dentară)
        - CIVD
        - consum medicamentos anti-coagulant
    - $> 100.000/mm^3$ în caz de chirurgie oftalmologică, neurologică sau ORL.

3. Modalităţi

a) Elemente de bilanţ pre-transfuzional (cf. transfuzii CE)

- Elementele bilanţului pre-transfuzional sunt cele descrise în cazul transfuziilor de CE : anamneza, informarea, grupajul şi serologiile.
- Căutarea de anticorpi anti-HLA în caz de risc de allo-imunizare anterioară.

b) Prescrierea transfuziei

- Prescripţia nominală cuprinde :

- identificarea pacientului, serviciului şi medicului prescriptor (nume, semnatură)
- data şi ora
- indicaţia transfuziei, semnele hemoragice
- natura CT : CTS sau CTU
- cantitatea dorită :
  - 1 unitate la 10 kg greutate pacient sau
  - 0,5-0,7 x 10^{11} trombocite la 7 kg de greutate.

c) Realizarea transfuziei

- Trombocitele obţinute prin fracţionare (multidonator) trebuie administrate în maximum 4 ore de la desigilare.
- Trombocitele obţinute prin aferează (unidonator) trebuie administrate cât mai repede posibil.
- Administrarea se va face printr-un filtru.
- Până la administrare, concentratele trombocitare vor fi menţinute pe agitator pentru evitarea apariţiei agregatelor trombocitare.
- Se va realiza controlul concordanţei identităţilor (prescripţie, fişă de distribuţie) şi al grupelor sanguine (grupul pacientului şi grupul indicat pe punga cu produs).
- Se recomandă transfuzarea de CT respectând grupurile AB0 şi Rhesus D.
- Transfuzia ca şi eventualele complicaţii vor fi trecute în foaia de observaţie a pacientului.

4. Supravegherea post-transfuzională

- cuprinde :
  - supravegherea eficacităţii clinice (sindromul hemoragic) a randementului transfuzional prin hemograma completă la cel puţin o oră de la transfuzie (nesistematic) ;
  - supravegherea accidentelor imediate (sdr frison-hipertermie, reacţie alergică imediată) sau întârziate (infecţii, allo-imunizare);
  - supravegherea complicaţiilor pe termen lung : infecţii virale…
- un randament transfuzional deficitar sau existenţa unui sdr frison-hipertermie trebuie să determine căutarea de anticorpi anti-HLA (+/- anti-PLA)
- pacientul trebuie informat de cantitatea de CT primită în cursul spitalizării
- serologiile virale (VIH, VHC et VHB) şi nivelul ALAT trebuie verificate la 4 luni de la transfuzie

ALTE PRODUSE DERIVATE DE SÂNGE

1. Plasma proaspătă congelată (PPC)

a) Preparate

- Se prepară prin congelarea plasmei obţinute din sângele integral, în primele 8 ore de la colectare, sau prin congelarea plasmei citratate, în primele 6 ore de la plasmafereză.
- Conţine factorii labili ai coagulării (V şi VIII) la concentraţiile normale.
- Reducerea transmiterii de factori infecţioşi este obţinută prin două metode :

  - *Securizarea* (carantina) : PPC nu este eliberat decât dupa o nouă verificare serologică a donatorului la 120 zile de la donare.
  - *Vitro-atenuarea* prin utilizarea de solvent-detergent.

b) Indicaţii

- PPC trebuie rezervat doar situaţiilor indiscutabile :
  - coagulopatie de consum
  - hemoragii grave acute cu deficit global în factori ai coagulării
  - deficite complexe rare în factori ai coagularii, când fracţiile coagulante nu sunt disponibile
  - purpura trombotică trombocitopenică (PTT)
- In aceste contexte, perfuzia de PPC este indicată în caz de asociere cu:
  - un sdr hemoragic sau o manevră invazivă cu risc hemoragic
  - o anomalie profundă a hemostazei :
    - Fibrinogen < 1g/l
    - IP < 40 %
    - aPTT > 1,5 ori valoarea martorului
- PPC nu trebuie utilizată ca o soluţie de umplere sau în prevenirea unui sindrom hemoragic în situaţiile precedente.
- PPC poate fi utilizat în mod excepţional în caz de supradozaj în vitamina K dacă există un şoc hemoragic sau în caz de indisponibilitate de complex protrombinic (PPSB).

c) Prescrierea

- se face pe fişă nominală
- volumul de PPC de prescris este în medie de aproximativ 10 - 15 ml/kg. Doza este de obicei superioară în PTT : 30-60 mL/kg

2. Granulocitele

- Indicaţiile sunt excepţionale :
  - stări septice severe :
    - celulita feţei sau pelvină
    - necontrolate de o antibioterapie corespunzătoare
  - contextul trebuie să fie al unei neutropenii severe < 200/mm^3 (sau un defect funcţional al neutrofilelor)
    - neräspunzând la factorii de creştere hematopoietici (G-CSF)
    - fără ameliorare rapidă prevăzută (aplazie pe termen lung)
  - etiologia acestei neutropenii este cel mai frevecvent o hemopatie malignă Această transfuzie este rezervată hemopatiilor cu prognostic favorabil.

3. Produsele sanguine stabile

a) Fracţii coagulante

- concentrate în factor VIII - indicate în hemofilia A
- concentratul de factor Willebrand - indicat în boala Willebrand
- concentratul de factor IX - în hemofilia B

- concentratul de fibrinogen indicat în deficitele ereditare şi dobândite severe, ca şi în disfibrinogenemii
- complexul protrombinic (**PPSB** : **P**rotrombina, **P**roconvertina, factor **S**tuart, factor anti-hemofilic **B**) - indicat în deficitele constituţionale în factor II sau X sau în hemoragiile din avitaminozele K. Datorită prezenţei factorilor activaţi, este contraindicat să se administreze în CIVD
- concentratele de factori VII, XI, XIII, AT III sau proteina C sunt indicate în deficitele congenitale sau dobândite în aceşti factori
- factorul VII activat (Novo-Seven) şi complexul protrombinic activat (CCPA) - indicate la hemofilici care au dezvoltat autoanticorpi

b) Albumina

- Indicaţiile albuminei sunt relativ restrânse. Cu câteva excepţii, ea nu prezintă interes în raport cu alte soluţii de umplere.
- ***Albumina 4 % injectabilă :***
    - Umplere vasculară la adult şi copil, necesitând utilizarea unei soluţii coloidale, în condiţiile în care coloizii artificiali sunt contraindicaţi sau au fost deja utilizaţi în doza lor maximală, mai ales în situaţiile următoare :
        - în arsurile grave
        - în cursul schimburilor plasmatice
        - la femeia gravidă
        - în sdr Lyell.
    - In cursul umplerii vasculare la o femeie gravidă în situaţie de pre-eclampsie, în prezenţa unei pierderi proteice importante demonstrate de o hipoproteinemie.
- ***Albumina 20 % injectabilă :***
    - Umplere vasculară în prezenţa unui sdr edematos major la adult şi copil, asociat cu o hipoalbuminemie profundă mai ales în situaţiile următoare:
        - la pacienţi în reanimare, în afara fazei iniţiale de umplere
        - în cursul reacţiilor grefon contra gazdă.
    - In ciroza adultului şi copilului, în următoarele situaţii :
        - ascită sub tensiune sau voluminoasă, tratată prin paracenteza cu volum important ;
        - infecţie spontană a lichidului de ascită ;
        - în peri-operator la transplantul hepatic.
    - In cursul umplerii vasculare la o femeie gravidă în situaţie de preeclampsie, în prezenţa unei pierderi proteice importante demonstrate de o hipoproteinemie.
    - La nou-născut : prevenirea icterului nuclear al nou-născutului în caz de hiperbilirubinemie ameninţătoare, hipoalbuminemie profundă şi simptomatică, tulburări hemodinamice necontrolate de umplerea cu cristaloide.
    - Boala congenitală a bilirubinei : hiperbilirubinemie liberă ameninţătoare, mai ales în boala Crigler-Najjar.

c) Imunoglobuline (Ig)

- ***Ig polivalente :***
    - deficite imune congenitale prin defect de producţie de anticorpi în caz de infecţii repetitive (trebuie repetate la 2-3 săptămâni interval)
    - deficite imune dobândite, cu defect de producere de anticorpi (LLC, mielom)
    - purpură trombocitopenică autoimună, eritroblastopenie autoimună, neutropenie autoimună
    - alte patologii autoimune : miastenie, sdr Guillain-Barré, dermatopolimiozite, auto-anticorpi anti-factor VIII
    - infecţie copil cu HIV, complicată cu infecţii repetate
    - infecţie severă cu parvovirus B19 la un imunodeprimat
    - Substituţie Ig specifică în infecţia cu VZV
- ***Ig specifice :***
    - Sunt preparate de la donatori hiperimunizaţi şi sunt utilizate pentru prevenţia tetanosului, hepatitei B, imunizării Rhesus (Ig anti-D), etc...

COMPLICAŢII

- Transfuzia de sânge şi derivate sanguine antrenează multiple complicaţii potenţiale (imune, de supraîncărcare, metabolice, infecţioase).
- Riscul de complicaţii este redus pe fiecare unitate administrată, dar cumulativ, în special pentru pacienţii politransfuzaţi.
- Chiar dacă sunt relativ rare, clinicianul trebuie să le cunoască, să limiteze cât mai mult apariţia şi importanţa lor, şi să aprecieze, pentru fiecare caz în parte, raportul între risc şi beneficiu.
- Recţiile adverse pot fi clasificate, din punct de vedere al mecanismului de producere, în imune şi non-imune sau, din punct de vedere al momentului de apariţie, în acute şi întârziate.
- Toate aceste complicaţii trebuie declarate în 48 ore de la producere în reţeaua de hemovigilenţă.

1. Accidente de supraîncărcare

a) Hipervolemie

- Produsul sanguin transfuzat rămâne, cel puţin teoretic, intravascular. Astfel, volumul său poate provoca supraîncărcarea volumică a circulaţiei, mai ales la pacienţii cu capacitate cardio-vasculară de adaptare volumică scăzută, cum este cazul persoanelor în vârstă, cele cu afecţiuni cardiovasculare.
- La aceste persoane, se poate produce o decompensare cardiacă cu manifestări până la edem pulmonar acut cu dispnee, ortopnee, tuse, cianoză, raluri crepitante la auscultaţia pulmonară.
- La aceşti pacienţi se poate recomanda :
    - utilizarea de diuretice după transfuzie (20-40 mg)
    - sângerare în paralel cu transfuzia

- transfuzarea lentă în ritm de 1 – 2 ml sânge/kg/oră.

b) Complicaţii ale transfuziilor masive

- ***Hipocalcemie*** – produsele sanguine au citrat ca anticoagulant. În mod normal, organismul metabolizează citratul dintr-o unitate de sânge în 5 minute. În transfuziile masive şi rapide, capacitatea de metabolizare este depăşită şi citratul în exces antrenează hipocalcemie. Aceasta poate fi exacerbată de acidoză şi hipotermie, antrenând tulburări cardiace. Se recomandă administrarea unei fiole de calciu la o unitate de sânge.
- ***Hipopotasemie*** – eritrocitele transfuzate absorb potasiul din plasmă.
- ***Hiperpotasemie*** - în timpul stocării, potasiul este eliminat din celule, astfel, în transfuziile masive, în context de acidoză şi hemoliză, creşte riscul de hiperpotasemie.
- ***Anomalii de pH*** – citratul din produsele transfuzate prin metabolizare formează bicarbonat cu tendinţa la alcaloză.
- ***Complicaţii hemoragice (diluţionale)*** – administrarea de volume mari de sânge antrenează o diluţie a trombocitelor, a factorilor de coagulare, suplimentată şi de anticoagulantul din soluţia de conservare. Acestea, combinate cu afecţiunea de fond : sepsis, şoc, coagulopatii, pot conduce la manifestări hemoragice severe.
- ***Hipotermie*** – administrarea unui volum mare de sânge, incomplet încălzit, poate antrena o hipotermie. Aceasta poate interfera cu metabolizarea citratului de către ficat şi favorizarea hipocalcemiei, cu creşterea aritmiilor cardiace. Interferează şi cu funcţia trombocitară, favorizând sângerările.
- ***Sindromul de detresă respiratorie a adultului*** – se datorează captării în microcirculaţia plachetară a microagregatelor de trombocite, leucocite şi fibrină, formate în cursul stocării eritrocitelor. Aceste microagregate nu sunt îndepărtate de filtrele uzuale. Se recomandă utilizarea de filtre cu diametrul de 40 microni.

c) Hemocromatoza post-transfuzională

- Complicaţie tardivă şi gravă la pacienţii care sunt politransfuzaţi cu CE în mod cronic.
- Tabloul clinicobiologic este cel al unei ciroze, cu insuficienţă cardiacă şi endocrinopatie
- Supraveghere : feritina plasmatică
- Tratament preventiv şi curativ : administrarea pe termen lung de chelatori de fier pe cale subcutană (Desféral®) sau orală (Exjade).

2. Accidente imunologice

a) Reacţii imunologice post-transfuzionale

- Se datorează, în majoritatea cazurilor, apariţiei de allo-anticorpi dirijaţi împotriva unor antigene transfuzate. Astfel survin :
  - allo-anticorpi ce recţionează cu antigene eritrocitare – sistemele antigenice cele mai vizate sunt Rh, Kell, Duffy şi Kidd
  - allo-anticorpi dirijaţi contra antigenelor HLA sau alte antigene asociate leucocitelor
  - allo-anticorpi antiplachetari – antigene HLA

  - allo-anticorpi dirijaţi împotriva unor proteine plasmatice.

Prezenţa anticorpilor poate antrena producerea de :

a) reacţii hemolitice imediate

- Sunt hemolize intravasculare. Reprezintă unele dintre cele mai severe complicaţii. Se datorează cel mai adesea incompatibilităţii în sistemul AB0, mai rar pe sistemele Rh, Duffy, Kell, Kidd.
- Anticorpii anti-A şi anti-B ş.a. sunt anticorpi naturali regulaţi sau neregulaţi, deci sunt IgM, fiind capabili să lege complementul şi să determine o hemoliză imediată, intravasculară.
- Anticorpii reacţionează cu structurile antigenice din membrana eritrocitară şi formează complexe imune, cu fixarea complementului şi activarea cascadei cu liza eritrocitară. Se vor elibera agenţi anafilactici, substanţe procoagulante, mediatori vasomotori.
- În plan clinic, instalarea este bruscă, cu **febră** cu sau/fără frisoane. Asociază **nelinişte, greţuri, vărsături, dureri toracice şi lombare, dispnee, tahicardie, flush facial, hipotensiune** până la stare de şoc. Complicaţiile majore sunt şocul, insuficienţa renală acută, coagularea intravasculară.
- La apariţia simptomatologiei care semnează complicaţia, se demarează măsurile de tratament al complicaţiei, în paralel cu investigaţiile paraclinice:
  - oprirea transfuziei
  - menţinerea unei căi venoase accesibile cu o perfuzie de ser fiziologic
  - raportarea accidentului transfuzional
  - verificarea identităţii donatorului şi primitorului la patul bolnavului
  - recoltarea unei probe de sânge pentru testări
  - compararea culorii plasmei sau serului pre- şi post-transfuzie : apariţia culorii roz semnifică hemoliza
  - realizare test Coombs direct pentru verificarea prezenţei de Ig pe eritrocite
  - căutarea Hb libere în urină
  - determinarea haptoglobinei şi a bilirubinei indirecte la 5-7 ore de la transfuzie
  - tratarea rapidă simptomatică – corectarea hipotensiunii prin hidratare (+/- dopamină), pentru evitarea insuficienţei renale cu administrare ulterioară de diuretice de tip Manitol (100 ml soluţie 20% în 5 min sau Furosemid 40-120 mg), tratarea coagulopatiei
  - se trimite în mod sistematic laboratorului de bacteriologie un eşantion din sângele transfuzat şi de la pacient (pentru eliminarea unui accident infecţios)
  - aceste accidente sunt provocate fie de o eroare în procedura vizând respectarea compatibilitatii AB0, fie de o nerecunoaştere a unei allo-imunizări

b) Sindrom frison-hipotermie

- Aceste reacţii se manifestă prin creşterea post-transfuzională a temperaturii corporale cu peste 1°C, în absenţa unei hemolize sau a altei cauze evidente.
- Survin cu o frecvenţă de 0,5 – 3 %, mai ales la pacienţii politransfuzaţi.
- Aceste reacţii pot debuta la 5 minute de la începutul transfuziei până la câteva ore de la terminarea ei, manifestându-se într-o primă etapă prin flush cutanat, palpitaţii, tahicardie,

tuse, dureri toracice. După un scurt interval asimptomatic, apar frisoane, ascensiune termică, tensională, cefalee.

- Cauzele acestor reacţii sunt :
  - apariţia de allo-anticorpi faţă de antigenele leucocitare şi plachetare ;
  - prezenţa, în materialul transfuzat, de citokine care se dezvoltă în timpul stocajului, mai ales în concentratele trombocitare, stocate la temperatura camerei
  - contaminarea accidentală a produselor transfuzate.
- Terapia reacţiilor febrile impune oprirea transfuziei şi declanşarea procedurii de confirmare sau infirmare a unei hemolize. În majoritatea cazurilor, nu se impune un tratament antipiretic, dar la 15-20% din cazuri se impune utilizarea de Acetamenofen, Algocalmin injectabil (1 fiola iv), Piafen (1 fiola iv) sau corticoizi (Solumedrol 80 – 120 mg).
- Prevenirea acestor reacţii se poate realiza prin :
  - utilizarea de concentrate eritrocitare sau trombocitare deleucocitate
  - utilizarea de concentrate trombocitare monodonor, obţinute prin afereză
  - utilizarea unor reguli riguroase de asepsie în procesul de recoltare, stocare şi administrare a preparatelor sanguine

c) Edem pulmonar transfuzional

- Se caracterizează printr-o detresă respiratorie severă, în contextul prezenţei unor infiltrate pulmonare şi a unui edem pulmonar de tip lezional.
- Incidenţa estimată ar fi de o reacţie la aproximativ 5.000 de transfuzii.
- Reacţia survine la 1 – 4 ore după transfuzie şi se manifestă prin stare febrilă, dureri toracice retrosternale, dispnee de repaus, tuse cu expectoraţie spumoasă, hemoptoică, cianoză. Analiza gazelor sanguine arată hipoxemie. Radiografia toracică evidenţiază infiltrate pulmonare nodulare bilaterale. Presiunea venoasă centrală şi cea din atriul stâng sunt scăzute, deci nu implică o decompensare cardiacă. Durează în medie 48 – 96 ore şi cedează fără sechele.
- Reacţia se datorează transfuzării de anticorpi cu specificitate pentru antigenele HLA sau unele antigene granulocitare, aflaţi în plasma donatorului. Reacţia antigen-anticorp determină aglutinarea leucocitelor şi activarea complementului la nivelul patului vascular pulmonar, cu lezare endotelială capilară şi extravazare lichidiană.
- Administrarea de corticoizi în doze masive (Solumedrol 500 – 1.000 mg/ zi sau Dexametazonă 16 – 24 mg/zi) poate fi benefică.
- Prevenirea acestor reacţii se poate face prin depistarea donatorilor cu anticorpi antileucocitari şi recuzarea lor. Majoritatea acestor donatori au fost femei multipare.

d) Incompatibilitate proteică

- Complicaţie rară, datorată prezenţei unui alergen solubil în plasma donatorului. Cea mai mare parte din cazuri sunt datorate unei reacţii între IgA de la donator şi anticorpii prezenţi la pacientul care are un deficit congenital în IgA.
- Tabloul este cel al unei reacţii de hipersensibilitate de tip I :
  - apariţie rapidă, în prima oră de la transfuzie

  - urticarie
  - manifestări respiratorii : tuse, bronhospasm
  - şoc anafilactic.
- Tratamentul se bazează pe antihistaminice, corticoizi sau adrenalină în cazurile severe.
- Utilizarea produselor deplasmatizate reprezintă terapia profilactică a reacţiei.

e) Purpura post-transfuzională

- Complicaţie datorată dezvoltării de anticorpi antitrombocitaţi şi prezenţa de antigene trombocitare circulante în plasma produselor transfuzate.
- Instalarea survine în 5-10 zile cu trombocitopenie severă, cu semne hemoragice.
- Pacienţii cu risc crescut sunt cei cu antecedente de sarcină sau transfuzionale.
- Prevenţia se bazează pe administrarea de produse deplasmatizate.

f) Reacţia grefon contra gazdă (GCG)

- Reprezintă o complicaţie rară şi severă, cu o letalitate de aproximativ 85 – 90 %.
- Se datorează conflictului între limfocitele viabile şi imunocompetente ale donatorului şi structurile antigenice tisulare ale primitorului, recunoscute ca non-self. Reacţia se produce în cazurile în care limfocitele donatorului ajung în circulaţia primitorului şi nu sunt distruse de sistemul imunocompetent al acestuia :
  - transfuzii la noii-născuţi, la care propriul sistem imun este încă imatur
  - transfuzii la pacienţi cu imunodeficienţe congenitale
  - transfuzii la pacienţii imunodeprimaţi sub chimioterapie intensivă pentru neoplazii, predominant ale sistemului limfoid
- Manifestările reacţiei se instalează la 4 – 30 zile de la transfuzie şi sunt similare celor din grefa medulară. Se produc : febră, eritem cutanat, diaree, tulburări ale funcţiei hepatice, cu hepatomegalie şi icter, supresie medulară cu pancitopenie şi complicaţiile sale.
- Diagnosticul se confirmă prin modificările histologice din biopsia cutanată şi mucoasa digestivă, şi tipajul HLA al limfocitelor circulante ce evidenţiază un tipaj diferit de al primitorului.
- Nu există un tratament specific eficace. De aceea, se preferă prevenirea reacţiei prin :
  - iradierea tuturor produselor sanguine înainte de transfuzie la categoriile cu risc
  - evitarea donatorilor familiali

3. Accidente infecţioase

a) Accident bacterian

- Acest accident este, rar dar foarte grav, datorat prezenţei în produsul sanguin transfuzat de bacterii Gram negative, ce au proliferat şi eliberat endotoxine bacteriene.
  - şoc infecţios toxinic ce se manifestă de la debutul perfuziei
  - stare de rău general, frisoane, febră ridicată
  - mialgii
  - dureri abdominale, diaree, vărsături
  - stare de şoc cu hipotensiune.
- Ulterior, survine o CIVD şi o insuficienţă renală acută oligo-anurică.

- Atitudinea practică :
    - oprirea imediată a transfuziei cu păstrarea abordului venos şi trecerea la umplerea vasculară cu soluţii macromoleculare
    - eliminarea unei hemolize prin incompatibilitate AB0
    - iniţierea rapidă a măsurilor de reanimare şi antibioterapie cu spectru larg
    - confirmarea diagnosticului prin adresarea în urgenţă a produsului transfuzat şi a sângelui de la pacient laboratorului de bacteriologie pentru hemoculturi şi examen direct pentru identificarea germenului şi pentru o antibiogramă.

b) Accident viral

- Riscul de transmitere a virusurilor cunoscute este tot mai slab datorită tehnicilor de depistare sitamatică a donatorilor, cât şi tehnicilor de atenuare virală a produselor stabile.
- Riscul actual este evaluat la :
    - VIH : 1 caz/2.500.000 transfuzii (1 caz/an)
    - HBV : 1 caz/450.000 transfuzii (6 cazuri/an)
    - HCV : 1 caz/6.500.000 transfuzii (1 caz/3 ani)
- Riscul de infecţie post-transfuzională cu CMV există în principal la pacienţii imunodeprimaţi şi la noii-născuţi din mamă seronegativă. Riscul trebuie prevenit în mod imperativ prin transfuzarea de produse CMV negative.
- Riscul de infecţie cu parvovirus B19 este slab. Această infecţie poate fi severă la imunodeprimaţi, pacienţii cu anemie cronică (hemoglobinopatii, hemoliză cronică) şi la femeile gravide.

c) Accident parazitar

- Riscul de paludism nu există decât cu produse sanguine ce conţin hematii. Prevenţia se realizează prin anamneza donatorilor şi serologia la donatorii cu risc.
- Alţi paraziţi : toxoplasmoza, filarioza, tripanozomiaza.

d) Alte accidente infecţioase

- Sifilisul transfuzional este excepţional în contextul depistajului obligatoriu prin serologie şi utilizarea cel mai adesea de sânge conservat trei ani.
- Prionii responsabili de boala Creutzfeldt-Jacob şi varianta sa pot fi transmişi transfuzional. Au fost raportate puţine cazuri. Durata de incubare mare nu permite o evaluare completă a riscului actual.

APLAZIILE MEDULARE

ANEMIA APLASTICĂ (INSUFICIENŢA MEDULARĂ GLOBALĂ)

DEFINIŢIE

Anemia aplastică este o boală caracterizată prin pancitopenie în sângele periferic, asociată cu o măduvă hematopoietică hipocelulară, afectând toate cele trei linii celulare autohtone : eritrocitară, granulocitară şi megakariocitară.

Reprezintă o insuficienţă medulară cantitativă, secundară dispariţiei complete sau parţiale a ţesutului hematopoietic, fără proliferare celulară anormală. Poate fi congenitală sau dobandită, iar, în acest ultim caz, poate fi primitivă sau toxică. Aplazia medulară este legată de o **reducere** a numărului de celule suşe pluripotente, susceptibile să se diferenţieze.

Aplazia pune în joc prognosticul vital iniţial, prin riscul infecţios şi hemoragic.

Asocierea diagnosticului sau descoperirea ulterioară a unei hemoglobinurii paroxistice nocturne (HPN), a unui sindrom mielodisplazic sau, mai rar, a unei leucemii acute mieloblastice trebuie luată in considerare pentru fiecare pacient.

Conceptul de anemie aplastică a fost introdus, în 1888, de Erlich, care, la necropsie, comunică cazul unui pacient cu anemie şi leucopenie severă, în absenţa măduvei active. Termenul a fost introdus de Chauffard, în 1904, dar cu un înţeles mai larg. Acesta a fost limitat la conceptul actual în 1959, de către Scott şi col.

EPIDEMIOLOGIE

- Incidenţa anuală a aplaziei medulare în Europa este, conform unor largi studii epidemiologice, de două cazuri la un milion de persoane (populaţie).
- Se pare că incidenţa este mult mai mare la populaţiile din Asia cu valori de 4 cazuri noi anuale în Bangok şi 6 cazuri în zonele rurale din Thailanda. Acest fapt se poate datora unor factori de mediu precum expunerea la chimicale, mai degrabă decât unor factori genetici, incidenţa fiind cea comună la populaţia de origine thailandeză din SUA.
- Boala survine în mod egal la ambele sexe, cu un sex ratio de 1:1, deşi se pare că este o incidenţă mai mare la bărbaţi în populaţia din Extremul Orient.
- Deşi boala survine la toate grupele de vârsta, se observă un mic pic de incidenţă în copilărie, datorită prezenţei formelor ereditare. Un al doilea pic se observă la grupul de 20-25 ani şi apoi după 60 ani.

ETIOLOGIE

Anemia aplastică poate fi primitivă sau familială, şi secundară sau dobândită (***Tabelul XV***). În cazul formelor dobândite, pentru aproximativ 50% dintre cazuri, cauza rămâne nedeterminată (anemia aplastică idiopatică).

Tabel **17**- ***Clasificarea etiologică a anemiilor aplastice***

I. Anemii aplastice dobândite
A. Agenţi fizici şi chimici - Agenţi care produc în mod regulat aplazie cu efect corelat cu doza - radiaţii ionizante, substanţe radioactive - benzenul şi derivaţii săi - insecticidele organoclorurate - Agenţi care produc accidental hipoplazia medulară - medicamente B. Agenţi infecţioşi - virusul hepatitei non-A, non-B (altul decât virusul hepatitic C) - virusul Epstein-Barr - parvovirusul - virusul imunodeficienţei umane - bacilul Koch C. Sarcina D. Timopatii - timoame, scleroza timică E. Fasciita cu eozinofile F. Idiopatice (50%)
II. Constituţionale
A. Anemia Fanconi B. Sindromul Shawchman-Diamond C. Diskeratoza congenitală D. Anemia aplastică familială

Tabel **18**

PRODUSE MEDICAMENTOASE ASOCIATE CU APLAZIE MEDULARĂ		
Clasa terapeutică	**Asociere frecventă**	**Asociere rară**
Agenţi antiinfecţioşi	Cloramfenicol QuinacrinA	Penicilina Meticilina Sulfamidele Tetraciclinele
Antiinflamatorii	Fenilbutazona	Acidul acetilsalicilic Indometacinul Diclofenacul
Anticonvulsivante	Metilfenilhidantoina Trimetadiona	Carbamazepina Difenilhidantoina
Antitiroidiene		Carbimazolul Propiltiouracilul
Sedative		Meprobamatul Clorpromazina
Antidiabetice orale		Tolbutamida Clorpropamida
Altele	Compuşi de aur	d-Penicilamina Cimetidina Ticlopidina

O a doua mare cauză o reprezintă agenţii fizici şi chimici. Expunerea acută la radiaţii ionizante sau la substanţe radioactive (accidentală, profesională sau conflictuală) poate produce hipoplazie sau aplazie medulară, efectul fiind dependent de doza de radiaţii. Agenţi chimici industriali sau medicamentoşi pot determina anemie aplastică. Unii sunt recunoscuţi ca agenţi etiologici, expunerea antrenând frecvent hipoplazia medulară, cum este cazul benzenului şi derivaţilor săi, tetraclorurei de carbon, insecticidelor organoclorurate. Alţi agenţi produc numai ocazional aplazie medulară, un rol important jucându-l şi sensibilitatea sau susceptibilitatea individuală. În acest grup intră o serie de medicamente precum Cloramfenicolul, Fenilbutazona, sulfonamidele, compuşii de aur, anticonvulsivantele...(***Tabelul 17***).

Infecţiile, în special virale, pot determina insuficienţa medulară globală. Hepatitele virale pot antrena, uneori, citopenii variabile, tranzitorii, iar, rareori, se pot instala aplazii severe. Acestea apar mai ales în cazul hepatitelor non-A, non-B, produse de un alt virus decât virusul C. Survin predominant la adulţii tineri, de sex masculin, în faza de recuperare a perioadei acute. Evoluţia este adesea fulminantă, cu supravieţuire pe termen lung sub 10%. Au fost semnalate cazuri de anemie aplastică în cursul infecţiilor cu virusul citomegalic, virusul Ebstein-Barr sau parvovirus. Ultimul survine adesea pe fondul unei anemii hemolitice congenitale (drepanocitoză, talassemie...). Pancitopenii, uneori severe, au fost semnalate la bolnavi cu tuberculoză, dar, adesea, măduva nu este hipoplazică.

Anemii aplastice au fost semnalate, rar, şi în alte afecţiuni precum :

- colagenoze - sclerodermie, fasciita cu eozinofile ;
- în cursul sarcinii, cu ameliorare post-partum sau post-abortum ;
- afecţiuni timice - scleroză timică, timoame ;
- anorexie nervoasă;
- boala grefă contra gazdă.

FIZIOPATOLOGIE

Câteva mecanisme concură la producerea anemiei aplastice :

➢ *Anomalii cantitative sau/şi calitative intrinseci*, ale celulelor stem hematopoietice ce antrenează un deficit de producţie a liniilor celulare sanguine. Rămâne mecanismul fundamental, unanim acceptat şi confirmat de o serie de observaţii.

➢ Existenţa unui defect la nivelul micromediului medular. Un micromediu competent este necesar viabilităţii şi funcţionalităţii celulelor stem. Orice anomalie la nivelul acestor componente ar putea altera micromediul cu incompetenţa celulelor stem.

➢ Anomalii cantitative sau calitative în producţia de factori de creştere hematopoietici sau alterări în producţia de citokine cu efect inhibitor asupra hematopoiezei.

➢ Supresia imunologică a hematopoiezei mediate umoral, celular sau prin limfokine.

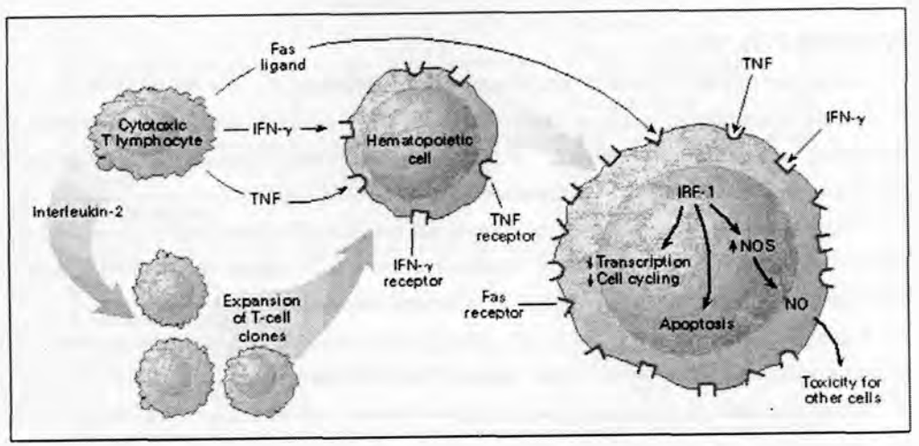
Mecanismele ce par implicate în majoritatea cazurilor sunt primul şi ultimul, sau o combinaţie a acestora. În aplazia medulară dobândită, elemente clinice şi de laborator sugerează faptul ca este o boală autoimună.

La examenul morfologic medular, se constată că elementele hematopoietice din măduva osoasă reprezintă mai puţin de 25% din populaţia celulară care este înlocuită, în mare parte, de adipocite. Imunofenotiparea celulelor medulare arată că celulele CD34+, care conţin celulele stem şi progenitorii angajaţi precoci, sunt în mod substanţial reduse. Observarea culturilor de celule stem *in vitro* arată o alterare funcţională profundă a progenitorilor hematopoietici, încat nu mai răspund la nivele crescute de factori de creştere.

Anterior, s-a crezut că aplazia medulară poate fi datorată unor defecte la diferite nivele, precum defecte intrinseci ale celulelor stem hematopoietice, unei agresiuni externe asupra celulelor stem, unui defect stromal cu rol major în proliferarea şi funcţionarea celulelor stem. În principiu, toate aceste mecanisme pot fi responsabile de boală. Pe baza acestor ipoteze patogenice, au fost realizate multiple experimente pe culturi celulare stem încrucişate, în sensul cultivării de celule stem de la pacienţii cu aplazie medulară, împreună cu stroma de la donatori sănatoşi şi vice versa. Aceste experimente au dus la concluzia că existenţa unui defect la nivelul celulelor stem reprezintă mecanismul central în majoritatea cazurilor de AM dobândită.

La pacienţii cu AM severă, celulele stromale au o funcţie normală, inclusiv producţia de factori de creştere. Funcţia stromală adecvată rezultă şi din transplantarea cu succes a celulelor stem de la donator, deoarece majoritatea celulelor stromale sunt ale gazdei (pacientului).

Rolul disfuncţiei imune a fost sugerat în 1970, când, după un transplant nereuşit la un pacient, a survenit o refacere a măduvei proprii. Mathe a sugerat faptul că terapia imunosupresoare utilizată în condiţionarea grefei a iniţiat recuperarea funcţiei medulare normale. De atunci, numeroase studii au arătat că, în peste 70% din cazuri, terapia imunosupresoare are efect benefic la pacienţii cu aplazie medulară.



Se pare că supresia hematopoiezei este mediată de o populaţie ce celule T citotoxice CD8+ HLA-DR+, care sunt adesea identificate în sângele şi măduva pacienţilor cu AM.

Aceste celule produc cytokine inhibitorii precum interferon-gamma (IFN-γ) şi tumor necrosis factor (TNF) care pot inhiba creşterea celulelor progenitoare. Aceste cytokine inhibă hematopoieza prin afectarea ciclului mitotic şi moartea celulară prin inducerea apoptozei mediate de către Fas.

În plus, aceste citokine induc nitric oxid sintetaza, cu producţia de oxid nitric de către celulele medulare, ce contribuie la citotoxicitatea mediată imun şi eliminarea celulelor hematopoietice.

MANIFESTĂRI CLINICE

Debutul este adesea insidios. Simptomele depind de severitatea citopeniilor, viteza de progresie a acestora, apariţia complicaţiilor infecţioase sau hemoragice.

a. Manifestări la diagnostic

- astenie progresivă, fatigabilitate, ameţeli, vertije şi alte semne datorate anemiei şi scăderii oxigenării tisulare ;
- infecţii cu diferite localizări, în funcţie de severitatea neutropeniei. Sunt adesea bacteriene, cu germeni ocazional patogeni. La cei trataţi cu antibiotice pot surveni infecţii fungice;
- sângerări, cu diverse localizări : cutanate, mucoase, organice. Frecvenţa şi severitatea lor depinde de severitatea trombocitopeniei. Riscul creşte când trombocitele scad sub $20.000/mm^3$.

b. Semne clinice

Examenul clinic poate releva semne legate de cele trei sindroame (anemic, hemoragic, infecţios).

- paloare sclero-tegumentară cu tentă cerată;
- purpura peteşială şi echimotică;
- hemoragii mucoase (bucale, digestive, metroragii...), retiniene...;
- stomatită, gingivită, faringo-amigdalită, adesea de tip ulcero-necrotic;
- splenomegalie – poate apărea în evoluţie, iar hepatomegalia şi adenopatiile sunt rar semnalate. Prezenţa lor la diagnostic atrage atenţia asupra unei patologii asociate.

EXAMENE PARACLINICE

a. Examenul sângelui periferic

- anemie normocromă, normocitară, aregenerativă, este semnul cel mai frecvent întâlnit. Uneori se poate evidenţia o macrocitoză moderată cu anizocitoză;
- leucopenie cu neutropenie, cu PN < $1.500/mm^3$ şi uneori monocitopenie;
- limfocitoză relativă (70 – 90 % în formulă);
- trombocitopenie de severitate variabilă;
- frotiul evidenţiază o morfologie eritrocitară normală, cu excepţia unei macrocitoze moderate;
- absenţa celulelor anormale de pe frotiu.

b. Analize biochimice

- fierul seric este crescut ca şi saturaţia siderofilinei;
- timpul de sângerare este alungit, corespunzător severităţii trombocitopeniei.

c. Examenul măduvei osoase

- **Mielograma** : măduva este hipocelulară, cu rarefierea celor 3 linii mieloide şi creşterea relativă a numărului de limfocite, plasmocite şi celule histiocitare, cu absenţa semnelor de dismielopoieză sau a celulelor anormale. Totuşi, o mielogramă săracă nu poate constitui singură criteriul de diagnostic pentru aplazia medulară. **Biopsia osteomedulară (BOM) este indispensbilă pentru diagnostic !!!**
- **BOM** : măduva este hipocelulară, chiar dezertică, cu rare zone celulare între adipocite şi un edem hemoragic al tramei de susţinere. Ea confirmă absenţa celulelor tumorale sau a mielofibrozei.

d. Alte examene

Studiul citogenetic

- pentru căutarea unei fragilităţi cromozomiale excesive. La pacienţii de până la 40 ani putem evoca posibilitatea unei boli Fanconi;
- cariotipul medular : în căutarea unei trisomii 8 sau monosomie 7 (semne de evoluţie).

Scintigrafii - incorporarea medulară de Indium-transferină sau de Fe^{59} care pot fi absente sau diminuate sau întarziate.

e. Bilanţ complementar

- Grup sanguin + fenotip eritrocitar complet (înaintea oricărei transfuzii).
- Electroforeza hemoglobinei şi determinarea grupului sanguin poate evidenţia valori crescute ale hemoglobinei fetale şi a antigenului I eritrocitar, sugerând o eritropoieză de stress. Aceste elemente sunt observate în aplazia medulară şi alte forme de insuficienţă medulară şi sunt proporţionale cu macrocitoza. Prezenţa unui test Coombs pozitiv poate indica o anemie hemolitica autoimună.
- Căutarea de aglutinine neregulate.
- Fenotipare HLA a pacientului şi fratriei (dacă vârsta pacientului este < 65 ani).
- Testele serologice pentru hepatită şi alte virusuri precum virusul Epstein-Barr (EBV), cytomegalovirus (CMV) şi virusul imunodeficienţei umane (HIV), parvovirus tulpina B19, pot fi utile.
- Se pot face teste pentru evidenţierea unui context auto-imun precum o colagenoză (anticorpi anti-nucleari, factor reumatoid...)

DIAGNOSTIC DIFERENŢIAL

Diagnosticul de anemie aplastica este un diagnostic de excludere, ce impune eliminarea celorlalte cauze care conduc la pancitopenie (cauze centrale sau periferice). (***Tabelul 19***)

***Tabel* 19**

CLASIFICAREA ETIOLOGICĂ A PANCITOPENIILOR

A. Cauze centrale (medulare)

A.1. Mecanism infiltrativ/hipoplazic

- leucemii acute aleucemice
- mielom multiplu
- infiltrare medulară limfomatoasă
- metastaze medulare carcinomatoase (mecanism infiltrativ sau inhibitor citokinic)
- fibroză medulară - osteomielofibroză, osteopetroză
- anemie aplastică

A.2. Mecanism displazic

- deficit de acid folic şi vitamina B_{12}
- sindroame mielodisplazice
- altele : infecţii severe, bruceloză, sarcoidoză ...

B. Cauze periferice

B.1. Hipersplenism

- splenomegalie congestivă
- limfoame splenice
- tezaurismoze
- boli infecţioase : tuberculoză, sifilis, kala-azar
- hepatopatii cronice
- primitiv

B.2. Autoimunitate

- sdr limfoproliferative
- lupus sistemic diseminat

C. Mecanisme mixte

- hemoglobinurie paroxistică nocturnă
- infecţii : septicemii, micobacterii, bruceloză
- sarcoidoză
- sarcină

EVOLUŢIE, COMPLICAŢII ŞI PROGNOSTIC

- Prognosticul acestor pacienţi rămâne destul de rezervat. Introducerea grefei medulare de la donator în arsenalul terapeutic al anemiei aplastice a determinat o ameliorare a supravieţuirii globale. Ţinând cont, însă, de limitările impuse de vârsta şi de şansa de a avea un donator, ameliorarea nu este semnificativă.
- Evoluţia pacienţilor cu AM s-a ameliorat substanţial prin îmbunătăţirea terapiei de susţinere. Evoluţia naturală a bolii arată că un mic număr de pacienţi pot recupera spontan cu terapia de susţinere, totuşi, atitudinea observaţională sau numai suportivă nu este recomandată.
- Supravieţuirea estimată la 10 ani pentru pacienţii care primesc terapie imunosupresivă (TIS) este de 68%, comparativ cu 73% la pacienţii care au primit transplant de celule stem (allo-TCS). Totuşi, se observă o ameliorare semnificativă a evoluţiei la pacienţii transplantaţi de-a lungul timpului, pentru donator familiali compatibili şi chiar donatori neînrudiţi, mai ales la pacienţii tineri. La pacienţii trataţi doar cu imunosupresoare există riscul recăderilor sau evoluţiilor clonale (mielodisplazii, leucemii acute) tardive.

• Cauza majoră de morbiditate şi mortalitate din AM o reprezintă infecţiile şi sângerarile. Pacienţii care primesc allo-grefă au morbidităţi suplimentare datorită toxicităţii regimului de condiţionare, riscul eşecului grefării şi reacţiei grefei contra gazdă.

• În aproximativ 25-30% din cazurile de AM tratate cu imunosupresoare, răspunsul nu apare. Cazurile rezistente, recăzute sau cu evoluţie clonală au riscurile lor suplimentare.

Prognosticul bolii depinde de diferiţi factori. De-a lungul timpului, s-a încercat realizarea de indici prognostici pe baza acestor factori. Grupul Internaţional de Studiu al Anemiei Aplastice a realizat un sistem mai simpu de evaluare prognostică folosind drept criterii : numărul de neutrofile, trombocite, procentul de reticulocite şi gradul de hipocelularitate medulară. Astfel, anemiile aplastice se clasifică în medii şi severe, cu prognosticul corespunzător (***Tabelul XVIII***). A fost recent concepută o altă clasificare, care introduce un nou grup de severitate şi anume aplaziile medulare foarte severe (*very severe*) care au aceleaşi caracteristici cu formele severe, doar că cifra neutrofilică este sub 200/mmc. Acest grup ar răspunde mai bine la terapia imunosupresoare.

***Tabel* 20**

CRITERII PENTRU ANEMIE APLASTICĂ SEVERĂ	CRITERII PENTRU ANEMIA APLASTICĂ MODERATĂ
➢ Neutrofile < 500/mm^3 ➢ Trombocite < 20.000/mm^3 ➢ Reticulocite < 1% ➢ Măduva cu hipocelularitate severă (25%) sau cu hipocelularitate moderată (50%), dar cu celulele hematopoietice sub 30% din celulele reziduale	➢ neutrofile 500 - 1500/mm^3 ➢ trombocite 20.000 - 40.000/mm^3 ➢ reticulocite 20 000 - 40 000/mm^3 ➢ măduvă cu hipocelularitate moderată (50%)
* Aplazia severă este definită de două sau trei criterii sanguine sau de criteriul medular	

Mortalitatea precoce este determinată de complicaţiile infecţioase sau hemoragice. Evoluţia de lungă durată este marcată de riscul unor neoplazii hematologice (leucemii, mielodisplazii), mai ales la cei trataţi cu imunosupresoare sau tumori solide, mai ales la cei cu grefă medulară. Prognosticul pacienţilor cu anemie aplastică moderată este mai bun decât al pacienţilor cu formă severă, totuşi, mulţi dintre pacienţi vor deceda ca urmare a complicaţiilor antrenate de pancitopenie sau de supraîncarcarea cu fier, secundară transfuziilor repetate.

TRATAMENT

Strategia terapeutică în anemia aplastică se bazează pe severitatea bolii, pe datele din literatură referitoare la răspunsul terapeutic obţinut la diferitele modalităţi terapeutice utilizate şi pe evoluţia bolii. Pacienţii care prezintă o formă severă de boală (vezi criteriile) trebuie trataţi cât mai rapid pentru că, dintre aceştia, marea majoritate vor deceda în primele patru luni sau/şi în primii doi ani. Pentru aceştia, prima opţiune terapeutică o reprezintă grefa medulară. Ei vor fi evaluaţi în acest scop (tipare HLA), ţinând cont de aspecte legate de vârstă

şi de existenta unui potenţial donator. În cazul în care aceste condiţii nu sunt întrunite, se va apela la tratamentul imunosupresor.

***Tabel* 21**

OPŢIUNI TERAPEUTICE ÎN ANEMIA APLASTICĂ
Tratamentul de prima linie
➢ Allografa de măduvă osoasă ▪ donator din fratrie ▪ donator familial compatibil HLA ➢ Imunosupresie ▪ GAT 15 mg/kg/zi, 8-10 zile +/- Metilprednisolon ▪ GAL 0,75 mg/kg/zi, 8-10 zile +/- Metilprednisolon ▪ Ciclosporină 12 mg/kg/zi cu modulare săptămânală ▪ GAT + Ciclosporină
Tratament de a doua linie
➢ Hormonii androgeni ▪ Testosteron, testosteron propionat 1-2 mg/kg/zi, 3 - 6 luni ▪ Oximetalon 3-5 mg/kg/zi, 3 - 6 luni ➢ Corticoterapie ➢ Factori de creştere hematopoietică ▪ G-CSF sau GM-CSF 300-350 microg/zi, 21 zile + ▪ Metilprednisolon 0,5-1 g/zi, 5 zile ➢ Allografa medulară ▪ donator străin compatibil HLA ▪ donator înrudit parţial compatibil
Tratament adjuvant
➢ Transfuzii de concentrate eritrocitare ➢ Transfuzii de concentrate plachetare ➢ Transfuzii de concentrate leucocitare ➢ Profilaxia şi tratementul complicaţiilor infecţioase
Tratamente experimentale
➢ Factori de creştere hematopoietică ▪ stem cell factor ▪ trombopoietină ▪ combinaţii ➢ Anticorpi monoclonali anti-limfocite T

TERAPIA DE SUSŢINERE

Măsuri generale

▪ supravegherea periodică a tabloului hematologic cu administrarea de transfuzii şi adoptarea măsurilor de limitare a riscului infecţios sau hemoragic, după caz ;

▪ întreruperea contactului cu orice potenţial toxic medular;

▪ în cazul în care numărul granulocitelor scade sub 1.000/mm^3, sau al polimorfonuclearelor neutrofile scade sub 500/mm^3, riscul infecţios creşte semnificativ, impunând o serie de măsuri de protecţie precum :

- o evitarea locurilor aglomerate şi contactul cu persoane infectate;
- o spălarea frecventă a mâinilor cu dezinfectante.

▪ La pacienţii spitalizaţi, se impun măsuri de reducere a potenţialului infectant :

- o izolarea pacienţilor, cu limitarea accesului vizitatorilor;
- o utilizarea de măşti, bonete de către personalul medical;
- o curaţenia zilnică în camera pacientului cu dezinfecţia obiectelor, suprafeţelor;

- dezinfectarea frecventă a mâinilor, corpului;
- utilizarea profilactică a antibioticelor nerezorbabile pe cale orală, pentru reducerea riscului de infectare cu germeni din tubul digestiv, sau utilizarea profilactică de sulfamide (Biseptol) sau chinolone (Ciprofloxacin);

▪ injecţiile intramusculare sunt contraindicate (trombocitopenie);

▪ se recomandă utilizarea aparatelor de ras electrice în locul lamelor de ras;

▪ periajul dentar cu o periuţă moale;

▪ prevenirea sau scurtarea sângerarilor catameniale în cazul în care acestea sunt abundente.

Terapia substitutivă transfuzională

▪ se impune de fiecare dată când valorile hematologice devin manifeste clinic (anemie, sângerari, infecţii...), afectând calitatea vieţii sau antrenând un risc letal ;

▪ pentru persoanele cu potenţial grefabil, transfuziile vor fi evitate pe cât posibil, mai ales cu produse provenind de la donatori familiali, pentru prevenirea imunizărilor faţă de antigenele familiale (ceea ce ar favoriza reacţia grefă contra gazdă şi rejetul grefonului) ; atunci când se impun, se vor folosi produse deleucocitate, iradiate, eventual de la donatori fără infecţie cu virus citomegalic în antecedente ;

▪ în caz de anemie, se vor transfuza concentrate eritrocitare. Valoarea prag a hemoglobinei poate fi de 6 mg/dl sau de 8 mg/dl la cei cu instalare rapidă sau cu alte tare organice ce pot fi potenţate de anemie;

▪ în caz de trombocitopenie, se vor transfuza concentrate trombocitare multidonor sau unidonor (preferate). Valoarea prag pentru care se indică transfuzia este de 10.000 – 20.000/mm^3, această valoare putând creşte până la 50.000/mm^3 în caz de sângerări, asocierea unor afecţiuni cu potenţial hemoragic, asocierea de febră, infecţii sau anomalii ale coagulării;

▪ transfuzia de concentrate granulocitare poate fi indicată în caz de infecţie severă, documentată, insuficient controlată de antibioterapie.

Tratamentul episoadelor febrile

▪ orice episod febril în context de granulocitopenie şi/sau neutropenie impune demararea unei antibioterapii empirice cu un spectru larg ;

▪ la apariţia febrei (peste 38 – 38,3^{0}C), se impune o anamneză amanunţită şi un examen clinic atent, pentru orientarea spre focarul infecţios şi posibilul agent infectant. În plus, se impune prelevarea diverselor produse biologice pentru examene bacteriologice (urină, sânge, spută, exudat faringian, plăgi, catetere), eventual examene speciale pentru anumiţi germeni (fungi, *Listeria*, *Nocardia*, *Pneumocystis*) ;

▪ demararea tratamentului antibiotic cu o asociere cu spectru larg precum : penicilina semisintetica (amoxicilina, amoxicilina+acidul clavulanic, piperacilina) cu un aminoglicozid (gentamicina, amikacina, netromicina), sau o cefalosporină (cefuroxim, ceftazidim...) cu un aminoglicozid sau o chinolonă de a treia generaţie (ofloxacina, ciprofloxacina, pefloxacina).

În caz de suspiciune a unei infecţii cu gram-pozitivi, în special stafilococ rezistent la meticilină, sa va asocia Vancomicina sau Teicoplanina. In caz de infecţie fungică, se va apela la amfotericina B, fluconazol sau itraconazol. Ulterior, tratamentul poate fi adaptat în funcţie de rezultatele examenelor bacteriologice.

MODALITĂŢI TERAPEUTICE

1. Transplantul medular

▪ reprezintă tratamentul de elecţie pentru pacienţii cu vârsta sub 40 ani, cu formă severă de boală şi care au în fratrie un donator potenţial cu compatibilitate HLA totală. Peste 40 ani, riscul grefei creşte, putând depăşi beneficiul, astfel că, peste 50-55 ani (60 pentru unele centre), grefa îşi pierde indicaţia;

▪ riscul complicaţiilor post-grefă este cel mai scăzut în cazul gemenilor monozigoţi (grefa singenică);

▪ dat fiind numărul scăzut de pacienţi cu donator compatibil în fratrie comparativ cu numărul pacienţilor cu anemie aplastică, există tendinţa de a lărgi sfera potenţialilor donatori prin utilizarea de donatori neînrudiţi, dar cu compatibilitate HLA completă sau donator - rude cu pacientul, dar cu compatibilitate parţială;

▪ complicaţiile majore ale grefei medulare sunt respingerea grefei şi boala grefă contra gazdă;

▪ respingerea grefonului, fie de la început (absenţa grefării celulelor suşă hematopoietice), fie ulterioară (după grefare) reprezintă o complicaţie majoră a transplantului la cei cu anemie aplastică. Se datorează fie unei condiţionări insuficiente cu imunosupresie insuficientă a gazdei, fie patologiei imune subjacente ce participă la etiopatogenia bolii; antrenează o mortalitate crescută, iar repetarea transplantului dă rezultate doar in 30% din cazuri ;

▪ boala grefă contra gazdă este mediată de celulele imunocompetente ale donatorului şi reprezintă o cauză majoră de morbiditate şi mortalitate tardivă la aceşti pacienţi. Poate avea o formă acută sau una cronică. Utilizarea de metotrexat şi ciclosporină pare a reduce incidenţa şi amploarea acestei complicaţii.

2. Tratamentul imunosupresor

S-a dezvoltat ca o alternativă terapeutică a pacienţilor cu anemie aplastică, cu atât mai mult cu cât observaţiile clinice şi investigaţiile paraclinice au sugerat intervenţia unui mecanism imunologic în medierea alterărilor medulare.

❖ ***Globulina antitimocitară (GAT)***

▪ reprezintă tratamentul de elecţie pentru pacienţii care nu sunt candidaţi pentru grefa medulară;

▪ acţionează mixt prin citoliza limfocitelor T şi prin inhibarea funcţiilor acestora, mai ales în producţia limfokinelor supresive. Administrarea lor determină reducerea rapidă a limfocitelor T circulante la sub 10% din numărul lor;

- răspunsul terapeutic este evaluat la aproximativ 50% din pacienţi, dar doar la o treime dintre ei răspunsul este complet. Normalizarea valorilor hematologice este rară, adesea se produce o ameliorare progresivă (etalată pe luni - ani) a acestora la valori care permit prevenirea accidentelor hemoragice spontane, infecţiilor şi reducerea necesarului transfuzional;
- se administrează în doze de 10 – 20 mg/kg/zi timp de 8-14 zile (cu o medie de 10 zile) sau în doze de 40 mg/kg/zi timp de 4 zile cu aceeaşi eficacitate şi efecte secundare mai reduse. GAT se administrează lent, în 4 – 6 ore, în soluţie salină;
- administrarea de GAT se complică adesea cu boala serului (45%) şi alte accidente alergice ;
- supravieţuirea la un an este de 40 – 75%;
- pacienţii sub 20 ani şi cu neutrofile sub 200/mm^3 par a răspunde mai puţin bine.

❖ ***Globulina antilimfocitara (GAL)***

- este un preparat echivalent cu ser antilimfocite din canalul limfatic toracic, produs şi comercializat în Europa, spre deosebire de GAT produs în SUA;
- are o eficacitate similară;
- se administrează în doze de 0,75 mg/kg/zi, timp de 8 zile, asociat cu Metilprednisolon în doze de 5 mg/kg/zi în zilele 1-8, apoi 1 mg/kg/zi în zilele 9-14;
- se administrează intravenos, lent, într-un interval de 8-12 ore.

❖ ***Ciclosporina***

- inhibă funcţionalitatea limfocitelor T, mai ales producţia de limfokine;
- pare a fi mai eficace ca tratament de a doua linie, la pacienţii rezistenţi la tratamentul cu GAT sau GAL, putând antrena 50% răspunsuri. Majoritatea răspunsurilor se instalează la câteva luni de la debutul tratamentului şi pot persista după întreruperea acestuia;
- se recomandă doze de 12 mg/kg/zi la adult şi 15 mg/kg/zi la copil, administrate oral în două prize cotidiene, sub supravegherea săptămânală sau bilunară a concentraţiei serice a Ciclosporinei şi ajustarea dozelor pentru a menţine concentraţia între 200 şi 500 µg/l;
- tratamentul este administrat minimum trei luni, iar, în caz de răspuns, se continuă până la obţinerea răspunsului hematologic maxim, apoi se scad dozele în trepte, într-un interval de câteva luni;
- efectele adverse ale tratamentului pot fi : retenţie azotată moderată, afectare hepatică, hipertensiune, hipertrofie gingivală, sindrom neuropsihic (posibil datorită hipomagnezemiei), infecţii (pneumocistoza).

❖ ***Tratamentul combinat între GAT şi Ciclosporină***

- eficacitatea terapeutică este superioară tratamentului cu GAT ;
- cele două produse se administrează succesiv ;
- tratamentul combinat antrenează un răspuns hematologic superior (aproape dublu), mai rapid şi mai complet, cu un procentaj de recăderi mai scăzut, dar cu o supravieţuire globală similară celor trataţi cu fiecare preparat separat.

3. Alte tratamente

❖ ***Hormonii androgeni***

- mecanismul de acţiune constă în stimularea producţiei de eritropoietină şi stimularea proliferării progenitorilor eritrocitari şi granulocitari;
- acest tratament este indicat mai ales în formele medii, cu o evoluţie cronică;
- se pot folosi metiltestosteron, testosteron propionat sau oximetolon în doze de 1-2 până la 3-5 mg/kg/zi, timp de 3-6 luni;
- răspunsul poate fi precoce (2-4 săptămâni) sau tardiv (5-6 luni). Răspunsul cel mai evident se obţine pe linia eritrocitară, cel trombocitar fiind observat cel mai rar;
- au fost semnalate remisiuni complete, persistente şi după întreruperea tratamentului;
- tratamentul androgenic poate uneori ameliora răspunsul terapeutic al formelor severe la GAT şi corticoizi.

❖ ***Corticoterapia***

- a fost utilizat pe scară largă, dar răspunsul terapeutic a fost mediocru, mai eficace doar la 12-15% dintre cei trataţi;
- în doze mici, de 1 mg/kg/zi, Metilprednisolonul se foloseşte asociat cu GAT sau GAL, dar singur, în doze mari, de 20-50 mg/kg/zi, poate determina răspunsuri hematologice.

❖ ***Factori de creştere hematopoietici***

- ar putea creşte numărul celulelor sanguine prin stimularea celulelor progenitoare existente la nivel medular, în special ale liniei granulocitare;
- se pot folosi G-CSF sau GM-CSF, în doze de 250-300 µg/zi, ce pot antrena creşteri tranzitorii ale neutrofilelor la majoritatea pacienţilor, dar cu revenirea la valorile iniţiale după oprirea tratamentului;
- deşi nu există argumente evidente în favoarea eficacităţii lor, factorii de creştere sunt utlizaţi adesea la pacienţii cu anemie aplastică severă.

STRATEGII TERAPEUTICE (UN POSIBIL ALGORITM)

În cazul pacienţilor cu aplazie severă, decizia asupra tratamentului de primă intenţie va ţine seama de vârsta pacientului şi de existenţa unui potenţial donator;

➢ pentru pacienţii sub 45 ani, se va practica tipajul HLA al pacientului şi al fratriei.

- pentru pacienţii sub 20 ani cu donator potenţial, se va recurge la transplantul medular cât mai rapid, cu reducerea la minimum a transfuziilor pre-transplant. În cazul în care nu există donator în fratrie, se va recurge la tratament imunosupresor sau se va căuta un donator neînrudit, compatibil, sau o rudă cu compatibilitate parţială;
- pentru pacienţii între 20 şi 45 ani fără donator, se va recurge la imunosupresie. Decizia este mai delicată în cazul acelora cu donator potenţial. Trebuie avute în vedere morbiditatea şi mortalitatea asociate cu transplantul şi care cresc cu vârsta. Se va avea în vedere severitatea bolii, şansa de răspuns la imunosupresoare, statusul pacienţilor;

- tratamentul imunosupresor constă în asocierea de GAT/Cyclosporină/Metilprednisolon; răspunsul terapeutic se apreciază după 3-4 luni de tratament :

➢ pentru pacienţii peste 45 ani, decizia este iarăşi simplă : se vor folosi imunosupresoarele (ca mai sus) ;

➢ în caz de absenţă a răspunsului sau de recădere după grefă, se vor utiliza imunosupresoarele;

➢ în lipsa răspunsului la imunosupresoare sau în caz de apariţia de complicaţii majore, se va recurge la corticoterapie în doze mari flash (Metilprednisolon 0,5-1g/zi, 5 zile), asociat sau nu cu factori de creştere cu supraveghere. În absenţa răspunsului, sau de la început, se poate recurge la terapia cu hormoni androgeni ;

➢ în paralel, se va recurge la terapia de susţinere şi substituţie.

ANEMIA APLASTICĂ CONSTITUŢIONALĂ

Se caracterizează prin prezenţa anomaliilor hematologice din copilarie, asocierea altor defecte congenitale şi agregarea familială a cazurilor. Predispoziţia pentru anemia aplastică este transmisă genetic. Din acest grup fac parte anemia Fanconi, anemia aplastică familială, diskeratoza congenitală.

ANEMIA FANCONI

Este o boală congenitaăa familială. Debutează clinic în primii 10 ani de viaţă, mai ales în jurul vârstei de 7 ani. Tabloul clinic este variabil, asociind pancitopenie (anemie, leucopenie şi trombopenie care apar cel mai precoce), pigmentarea brună a tegumentelor, anomalii scheletale (nanism, microcefalie, hipoplazie sau absenţa policelor sau radiusului, degete suplimentare), alte anomalii (hipogenitalism, strabism, hipoplazie renală, microftalmia, retard mintal), instabilitate cromosomială, cu o incidenţă crescută a rupturilor cromosomiale, ce pot favoriza riscul crescut de apariţie a unei leucemii sau tumori solide, în evoluţie.

Majoritatea pacienţilor răspund la tratamentul corticoid sau androgenic, dar necesită tratament de întreţinere. Majoritatea decedează în a doua decadă de viaţă prin complicaţii infecţioase sau hemoragice.

DYSKERATOSIS CONGENITA

- Boala afectează cu predominanţă sexul masculin.
- Se manifestă prin : hiperpigmentare reticulară, distrofie ungheală, leucoplazie la nivelul mucoaselor, uneori anomalii scheletale. Prima manifestare hematologică o constituie trombocitopenia amegacariocitară, manifestându-se din perioada neonatală. Unii pacienţi evoluează spre anemie aplastică sau unele neoplazii.
- Se poate apela la corticoterapie singură sau în asociere cu hormonii androgeni, dar răspunsurile sunt inconstante şi incomplete.

SINDROMUL SHWACHMAN-DIAMOND (INSUFICIENŢA PANCREATICĂ ŞI PANCITOPENIE)

Au fost communicate câteva cazuri de pacienţi asociind pancitopenie, hipoplazie medulară şi insuficienţă secretorie enzimatică pancreatică majoră. O parte evoluează spre anemie aplastică sau dezvoltă neoplazii hematologice.

ANEMIE APLASTICĂ FAMILIALĂ

S-au semnalat cazuri rare de familii în care apar mai multe cazuri de anemie aplastică, dar fără prezenţa stigmatelor din anemia Fanconi (pigmentare brună a tegumentelor, anomalii scheletale...).

HEMOPATIILE MALIGNE

LEUCEMIILE ACUTE (LA)

GENERALITĂŢI

Leucemiile acute reprezintă un grup heterogen de proliferări maligne ale celulelor stem (suşe) hematopoietice, totipotente (uncomitted) sau unipotente (comitted). Ele se caracterizează printr-o expansiune clonală a unor celule imature (aparţinând liniei limfoide sau mieloide), care şi-au pierdut capacitatea de diferenţiere şi maturare. Procesul proliferativ determină acumularea celulelor maligne cu invadarea măduvei osoase hematoformatoare, având drept consecinţă suprimarea creşterii şi diferenţierii celulelor medulare normale şi diminuarea producţiei de celule sanguine. Drept consecinţă, survin citopenii variabile în sângele periferic. Acestea pot fi manifeste determinând asocierea unor sindroame : ***anemic, infecţios*** şi ***hemoragic.*** Celulele leucemice pot părăsi măduva, trece în sânge şi invada orice organ. Practic, câteva organe sunt implicate preferenţial : ganglionii, ficatul, splina, tegumentele, sistemul nervos central şi testicolele. Această infiltraţie extramedulară va determina ***sindromul tumoral.***

LEUCEMIILE ACUTE LIMFOBLASTICE (LAL)

EPIDEMIOLOGIE

Incidenţa leucemiei acute variază între 1 şi 6,5 cazuri la 100.000 de persoane din populaţie pe an. Incidenţa variază cu tipul citologic şi vârsta.

- leucemiile acute limfoblastice au o incidenţă de aproximativ 1,5-2,5 cazuri noi/100.000 locuitori/an;
- reprezintă 80% din LA la copil şi 20-30% din LA la adult;
- prezintă două vârfuri de incidenţă : la copilul de 2 - 10 ani (75% din cazuri sunt diagnosticate înainte de 6 ani) şi la adultul de peste 50 ani;
- este ceva mai frecventă la băieţi, cu un sex ratio de 1,3/1;
- LAL sunt mai frecvente la caucazieni decât la rasa neagră.

ETIOLOGIE – FACTORI DE RISC

- Cauza producerii leucemiei acute rămâne o necunoscută pentru majoritatea cazurilor diagnosticate. Au fost identificaţi o serie de factori ce par a fi implicaţi în procesul de leucemogeneză.
- Factorii de risc din LAL sunt mai puţin cunoscuţi decât cei din LAM.
- Factorii de risc recunoscuţi sunt :
  - expunerea *in utero* la radiaţii X;
  - expunerea la toxice : derivaţi de benzen, solvenţi;
  - leucemia granulocitară cronică, singurul sindrom mieloproliferativ ce se poate acutiza ca LAL;

- virusuri - rolul lor a fost demonstrat la animale. Pentru unele virusuri, ca HTLV-I, rolul a fost demonstrat şi pentru organismul uman (leucemia acută/limfomul cu celulă T a adultului);
- patologii genetice : trisomia 21, neurofibromatoza Recklinghausen, sdr Schwachman, sdr Klinefelter, sdr Bloom, ataxia telangiectazie.

DIAGNOSTIC

1. Manifestări clinice

- Semnele şi simptomele se pot instala insidios, progresiv, etalate pe mai multe săptămâni sau chiar luni. Acest mod de debut ar putea semnifica un răspuns terapeutic mai durabil.
- Mai frecvent, debutul este brusc, exploziv, uneori prin complicaţii, precedând cu puţin timp momentul diagnosticului.
- Semnele şi simptomele se datorează citopeniilor secundare, insuficienţei medulare prin infiltrare leucemică şi/sau infiltrării leucemice a unor organe extramedulare (sindromul tumoral) :

a. Semne şi simptome generale : alterarea stării generale, febră sau subfebrilităţi fără context infecţios evident (datorită proliferatului leucemic), transpiraţii, inapetenţă, scădere în greutate.

b. Semne şi simptome datorate insuficienţei medulare :

- ***Sindrom anemic*** : astenie, fatigabilitate, ameţeli, vertije, paloare, dispnee, palpitaţii, tahicardie, fenomene anginoase sau de decompensare cardiacă la pacienţii vârstnici.
- ***Sindrom infecţios*** : angine, adesea cu aspect ulcero-necrotic, suprainfecţii recidivante, febră, pneumonii, bronhopneumonii …
- ***Sindrom hemoragic*** : peteşii, echimoze, hematoame, gingivoragii, epistaxis, meno-metroragii, mergând până la manifestări mai grave, precum hemoragii digestive, hemoragii în SNC, etc...

c. Semne şi simptome datorate proliferării leucemice :

- ***Dureri osoase*** sau pseudo-articulare, adesea cu caracter migrator, accentuate la compresiune (stern, metafize).
- ***Sindrom tumoral*** - aceste manifestări sunt mai frecvent prezente decât în LAM
  - splenomegalie
  - hepatomegalie
  - adenopatii nedureroase
  - uneori hipertrofie testiculară, mai rar
  - tumoră mediastinală cu sindrom de compresiune pe vena cavă superioară - este consecinţa unei localizări mediastinale timice (LAL T) sau ganglionare (LAL B)
  - infiltrare renală
  - localizare cutaneo-mucoasă
  - localizare pleurală, pericardică, pulmonară
  - localizare testiculară, ovariană
  - adenopatii abdominale cu sdr compresiv

- ***Infiltrarea SNC*** survine la 1-3 % din cazuri la diagnostic, procentajul crescând în evoluţie sau cu ocazia recăderilor. Se manifestă prin cefalee, vărsături precedate sau nu de greţuri, sindrom meningeal, paralizii ale nervilor cranieni, mai ales perechile 6 şi 7. Examenul fundului de ochi poate evidenţia edem papilar (hipertensiune intracraniană) şi/sau hemoragii retiniene. Puncţia lombară, efectuată sistematic la diagnostic, poate pune în evidenţă prezenţa de celule leucemice în lichidul cefalorahidian.
- ***Un sindrom de leucostază*** este mai rar, ca în LAM, dar se poate observa la copilul hiperleucocitar (> 100.000/mmc).

2. Investigaţii paraclinice

a. Hemograma :

- hiperleucocitoză (prezentă în aproximativ 60 % din cazuri), cu predominanţa celulelor blastice, asociind semne de insuficienţă medulară : anemie normocromă, normocitară, aregenerativă, neutropenie, trombopenie;
- prezenţa celulelor blastice şi a celor mature, fără elementele intermediare de maturare, creEază aspectul de "hiatus leucemic";
- uneori se semnalează un tablou de pancitopenie cu rare celule leucemice, sau chiar absenţa acestora (forme hipo sau aleucemice);
- alteori, o citopenie izolată;
- aceste rezultate impun realizarea unei puncţii medulare pentru a efectua :

  * o mielogramă, un examen citochimic, un imunofenotipaj al celulelor blastice care permit diagnosticul pozitiv al LA şi clasificarea sa conform FAB (French-American- British);
  * un cariotip şi un examen de biologie moleculară care aduc informaţii prognostice.

b. Mielograma – examen morfologic

- este indicată pentru precizarea diagnosticului pozitiv şi de subtip, utilizând toate metodele necesare (morfologică, citochimică, imunologică, citogenetică);
- evidenţiază o măduvă bogată, hipercelulară, compusă în special din celule blastice (minimum 20 %, uneori peste 80-85 %), cu diminuarea netă a liniilor celulare autohtone;
- celulele blastice sunt de talie mică – medie, cu un raport nucleo-citoplasmatic crescut şi citoplasma bazofilă lipsită de granulaţii ;
- clasificarea FAB (L1, L2, L3) se bazează pe examenul taliei celulelor blastice, forma nucleului, prezenţa nucleolului, raportul nucleo-citoplasmatic, aspectul cromatinei şi bazofilia citoplasmei. Această clasificare are ca principal interes să distingă formele L3 sau leucemia Burkitt care beneficiază de tratament diferit.
- biopsia osteomedulară nu este necesară.

c. Studiul citochimic

- are ca scop să diferenţieze o LAL de o LAM : reacţii ale mieloperoxidazei şi esterazelor negative
- interesul citochimiei este minor în raport cu imunofenotiparea care confirmă apartenenţa la linia limfoidă.

d. Imunofenotiparea celulelor blastice

• este esenţială în clasificarea LAL :

– confirmă diagnosticul de LAL şi pune în evidenţă markeri de imaturitate : CD34, TdT (terminal deoxyribonucleotidyl transferase);

– subclasifică LAL în formele cu celule B şi cu celule T (fapt ce antrenează consecinţe terapeutice şi prognostice) :

* **LAL B** : CD19, CD20, CD22, CD79a şi IgM (de suprafaţă/citoplasmatic)

* **LAL T** : CD1a, CD2, CD3 (de suprafaţă/citoplasmatic), CD4, CD5, CD7 şi CD8.

• permite în plus :

– clasificarea LAL potrivit stadiului de diferenţiere a celulei proliferante (valoare prognostică);

– căutarea expresiei antigenului CD10 (CALLA) – a cărui prezenţă defineşte grupul LAL "comune". Absenţa sa antrenează un prognostic rezervat (forma imatură);

– căutarea coexpresiei antigenelor mieloide (CD13, CD33) cu prognostic rezervat, adesea asociată cu o translocaţie t(9;22).

e. Examen citogenetic - cariotip

• Este unul din factorii majori de prognostic.

• Evidenţiază anomalii de număr :

* hipoploidie (< 45 cromozomi) cu prognostic rezervat;

* hiperploidie (> 46 cromozomi) cu prognostic "bun".

• Anomaliile de structură cele mai frecvent asociate cu un prognostic negativ sunt :

* translocaţia ***t(9;22)*** (cromozomul Philadelphia, prezent şi în LGC), frecvent la adult (25 % din LAL B), rar la copil (3 %);

* translocaţia ***t(4;11)*** frecventă la copilul de sub un an (> 50%) şi asociată cu absenţa CD10;

• în LAL L3 Burkitt, se evidenţiază anomalii afectând crs 8 (oncogena c-myc), dintre care cea mai frecventă este translocaţia ***t(8;14)***;

• ***t(12;21)*** este cea mai frecventă anomalie specifică la copii (25%) cu un prognostic mai bun;

• ***t(11;19)*** conferă un prognostic mai bun în LAL cu celule T.

f. Biologie moleculară

– Biologia moleculară trebuie realizată sistematic şi are două obiective :

* detectarea transcripturilor de fuziune corespunzătoare translocaţiilor celor mai frecvente:

■ căutare transcript BCR-ABL (t(9;22)), MLL-AF4 (t(4;11)), ca şi altele cu interes prognostic;

* detectarea rearanjamentelor genelor imunglobulinelor (Ig) şi receptorului T (TCR) :

■ această tehnică pune în evidenţă caracterul clonal al proliferării (rearanjamentul este specfic clonei);

■ interesul său este de a detecta, dupa remisiune, nivelul rezidual al celulelor leucemice (boala minimă reziduală) graţie acestui marker specific.

g. Alte examene :

• bilanţul hemostazei pentru căutarea unei CIVD sau alte coagulopatii (mai rare ca în LAM);

• dozarea LDH, B12, transcobalamina - sunt crescute datorită turnover-ului crescut al celulelor leucemice;

• ionograma, ureea, creatinina (funcţia renală poate fi alterată la diagnostic sau survine în cursul tratamentului), calcemia, fosforemia şi magnezemia (hiperfosforemia şi hipocalcemia sunt semnalate în distrucţiile celulare crescute şi impun compensarea terapeutică);

• uricemia şi uricozuria (pot fi crescute în cazurile cu volum tumoral mare, sau în cursul tratamentului citostatic, antrenând un risc crescut pentru nefropatia urică);

• bilanţul bacteriologic;

• puncţia lombară sistematică (este obligatorie în toate cazurile de LAL pentru depistarea unei eventuale infiltrări neuro-meningee);

• radiografia toracică în căutarea unei mase tumorale în mediastinul anterior. Este semnalată în 5 – 10 % din cazuri, în special în formele cu celulă T;

• echografie abdominală pentru căutarea unui sindrom tumoral abdominal;

• radiografiile osoase semnalează prezenţa, la 50 % din pacienţi, a unor leziuni de tipul linii radio-transparente transversale situate la nivel metafizar, în apropierea zonelor de creştere sau la extremitatea oaselor lungi. Osteoporoză difuză, leziuni osteolitice corticale şi trabeculare.

3. Diagnostic diferenţial :

- adenopatii febrile/limfocitoze reactive : mononucleoză infecţioasă, toxoplasmoză, infecţie cu citomegalovirus, bruceloză;
- artrita reumatoidă juvenilă, lupusul eritematos sistemic – mai ales în formele care asociază pancitopenie şi organomegalie (adenopatii, splenomegalie). Examenul medular este hotărâtor;
- tumori solide cu metastaze medulare – carcinomul pulmonar cu celule mici, tumora cu celule Merkel şi rabdomiosarcomul, la adult, şi sarcomul Ewing, rabdomiosarcomul şi tumorile neuroectodermice primitive la copil;
- aplazii medulare (în formele cu pancitopenie);
- LAM puţin diferenţiate, mai ales formele M0 şi M7;
- LAL acute secundare transformării LLC sau unui SMD;
- LMNH cu celule din manta, varianta blastică;
- LMNH hepatosplenic cu celule T gamma;
- hematogoniile – reprezintă celule progenitoare limfoide prezente în măduva osoasă. Sunt prezente în număr crescut la copil, dar apar şi la adult, mai ales în măduva care regenerează după chimioterapie.

PROGNOSTIC

Aprecierea prognosticului unui caz este esenţială în stabilirea atitudinii terapeutice în acel caz. Două criterii sunt definitorii în evaluarea prognosticului : obţinerea remisiunii complete şi durata remisiunii complete (definită ca intervalul de timp de la obţinerea remisiunii complete până la apariţia unei recăderi). Supravieţuirea globală este un criteriu accesoriu, important.

Au fost identificaţi cinci factori esenţiali :

- **leucocitoza peste 30.000/mm^3 la diagnostic;**
- **vârsta** sub un an sau peste 10 ani conferă un prognostic rezervat, iar la adult vârsta peste 50 ani ;
- **fenotipul leucemiei** : leucemiile de tip T au un prognostic mai bun decât cele non-T;
- prezenţa unor **anomalii citogenetice** : prezenţa crs Ph conferă un prognostic extrem de rezervat. Alte anomalii : t(4;11) şi t(1;19) conferă tot un prognostic rezervat;
- **durata până la obţinerea răspunsului terapeutic** : cu cât acesta este mai tardiv (peste 4 săptămâni de tratament), prognosticul este mai rezervat.

Alţi factori luaţi în consideraţie sunt :

- sexul masculin, formele tumorale (masă mediastinală), formele L2, L3 (FAB),
- Hb > 8 – 10 g/dl,
- trombocitopenia,
- valoarea LDH (peste 1.000 U/l),
- formele T, B, mixte.

TRATAMENT

1. Tratamentul specific

- Se bazează pe chimioterapie. Mai multe clase de medicamente citostatice sunt utilizate :
  - corticozi : prednison şi dexametazona ocupă un loc central, deşi nu sunt citostatice
  - alcaloizi de vinca (inhibitori ai fusului mitotic) : vincristină (++), vinblastină
  - antraciclinele (inhibitori de topoisomerază II)
  - ciclofosfamidă (agent alkilant)
  - metotrexat (anti-folic)
  - L-asparaginază (inhibitor al sintezei proteice)
  - altele : aracitină, 6-mercaptopurină...
- Terapia cuprinde mai multe etape :

a. Tratamentul de inducţie:

- scopul tratamentului de inducţie este de a obţine eradicarea bolii (reducerea numărului de celule leucemice sub nivelul detectabil prin metode convenţionale, cu normalizarea clinicăşi hematologică);
- tratamentul se realizează cu droguri citostatice – polichimioterapie care asociază 4-6 medicamente;

- ciclogosfamidă + vincristină + prednisolon (sau dexametazonă + daunorubicină/ idarubicină/ mitoxantron + asparaginază
- drogurile se administrează secvenţial 4 – 5 săptămâni
- terapia are ca principii: sincronizarea ciclului celular, recrutarea celulelor aflate în faza latent şi protejarea capitalului hematopoietic (celulele stem)
- la sfârşitul perioadei de aplazie post-terapie de inducţie, se realizează controlul medular pentru aprecierea răspunsului terapeutic. În caz de remisiune parţială sau eşec terapeutic, se aplică o nouă cură, "de recuperare", care poate fi identică cu prima sau mai intensivă
- absenţa remisiunii complete după inducţie reprezintă un factor de prognostic rezervat
- în caz de obţinere a remisiunii complete, se trece la faza următoare a tratamentului.

b. Tratamentul de consolidare :

- tratamentul de consolidare sau de intensificare se aplică numai după obţinerea remisiunii complete
- are drept scop distrugerea tuturor celulelor leucemice, inclusiv a celor nedetectabile prin tehnicile uzuale
- este un tratament intensiv etalat pe următoarele trei luni.

c. Profilaxia recăderilor în SNC :

- profilaxia recăderilor în SNC se bazează pe premisa că SNC reprezintă un sanctuar pentru celulele leucemice, bariera hemato-encefalică împiedicând accesul citostaticelor din sânge;
- profilaxia recăderilor în SNC este sistematică în absenţa infiltrării neuromeningee la debutul bolii
- se realizează prin injecţii intratecale cu citostatice (metotrexat, cytosar). Se poate asocia şi o iradiere cerebro-spinală (18-24 Gy în 12 fracţiuni în 12 săptămâni) în acelaşi scop.

d. Tratamentul de întreţinere :

- are scopul de a reduce la maximum riscul de reevoluţie a bolii
- în prezent, se preferă aplicarea tratamentului de întreţinere pe o durată de 24 – 30 luni
- baza tratamentului o constituie administrarea orală cotidiană de 6-Mercaptopurină (Purinetol) asociată cu administrarea i.v. săptămânală de Metotrexat (sub controlul săptămânal al hemogramei). La acest tratament de bază se asociază cure scurte de intensitate mai mare, asociind diverse droguri citostatice administrate la intervale progresive de 4 – 6 – 8 săptămâni.

- allografa de celule suşă hematopoietice este rezervată pacienţilor tineri cu factori de risc de recădere
- autografa este folosită de unele echipe ca o modalitate de intensificare tardivă
- pentru LAL cu t(9;22), se utilizeaza sistematic Imatinib (Glivec®), un inhibitor de tirozin kinază (TKI) specific pentru oncogena BCR/ABL, în asociere cu chimioterapia standard
- LAL cu celule Burkitt sunt tratate cu protocoale terapeutice diferite

2. Tratamentul complicaţiilor

• similar ca pentru LAM

EVOLUŢIE

• prognosticul copiilor diferă de al adulţilor

• La copii :

– rata remisiunilor este superioară - 95 %

– supravieţuirea la 5 ani – aproximativ 80 %

– principalele obiective actuale sunt de a identifica mai precis :

* pacienţii cu risc de recădere pentru a le propune terapii mai intensive

* pacienţii cu " risc favorabil " pentru a diminua dozele chimioterapice şi deci de a evita toxicităţile secundare

• La adult :

– nivelul de remisiune este de 80-85 %

– supravieţuirea la 5 ani este doar de 30 - 40 %

– principalele obiective actuale sunt de a evalua :

* protocoalele terapeutice inspirate de cele pediatrice (mai intensive şi mai toxice)

* locul Imatinib (Glivec®) în grupul pacienţilor cu LAL Ph1+

LEUCEMIILE ACUTE MIELOBLASTICE (LAM)

În cazul LAM, celulele de origine şi proliferante sunt celule blastice care prezintă adesea markeri de diferenţiere mieloidă sau monocitară. În aproximativ 7 – 10 % din cazuri, celulele blastice prezintă markeri de diferenţiere eritroidă sau megakariocitară. În acest context, termenul mai corect ar fi de Leucemii Acute NeLimfoide (LANL), dar cel de LAM este cel intrat în utilizarea comună.

EPIDEMIOLOGIE

- LAM au o incidenţă globală de 3 cazuri noi anual la 100.000 persoane
- reprezintă în mare parte o patologie a adultului
- incidenţa creşte cu vârsta, pentru a atinge 10 cazuri la 100.000 persoane la cei peste 80 ani
- vârsta mediană la debut este în jur de 65 ani, ceea ce implică o incidenţă crescută la vârstele avansate, teren pe care terapia standard nu poate fi aplicată datorită toxicităţii citostaticelor utilizate
- LAM reprezintă mai puţin de 15 % din leucemiile la copilul sub 10 ani şi 20 – 25 % din cazuri la copii între 10 – 15 ani, în timp ce, la adult, ele reprezintă 80 – 85 %
- leucemiile acute reprezintă aproximativ 10 % din patologia neoplazicăşi reprezintă principala cauză de deces neoplazic la grupa de vârstă sub 35 ani

ETIOLOGIE – FACTORI DE RISC

- cauza producerii leucemiei acute rămâne o necunoscută pentru majoritatea cazurilor diagnosticate. Au fost identificaţi o serie de factori ce par a fi implicaţi în procesul de leucemogeneză.

- din punct de vedere al cauzei, este foarte important să se deosebească două subtipuri de LAM :

- LAM « primitive » sau *de novo*, care survin în absenţa oricărui antecedent notabil, mai ales fără antecedente hematologice
- LAM secundare – a căror etiologie cuprinde :

* expunerea la *radiaţii ionizante* (accidentală sau terapeutică)

* expunerea la *toxice :* derivate din benzen, solvenţi, pesticide, tabac

* antecedente chimioterapice :

* *agenţi alkilanţi :* clorambucil, ciclofosfamidă, melfalan…

* *inhibitori de topoizomerază II :* etoposide (VP-16), cisplatine, antracicline…

* sdr mieloproliferative (LGC în principal, dar şi PRV, TE) – stări preleucemice

* sdr mielodisplazice – stări preleucemice

* patologii genetice : trizomia 21, boli de reparaţie ADN (boala Fanconi, ataxie telangiectazie, *xeroderma pigmentosum*, sdr Bloom), neutropenii congenitale (sdr Kostmann), neurofibromatoza Recklinghausen, sdr Klinefelter

- deci vor trebui căutate argumente în favoarea unei LAM secundare la fiecare caz în parte (anamneză atentă, antecedente, hemograme anterioare...)

- LAM secundare au un prognostic foarte rezervat

DIAGNOSTIC

1. Manifestări clinice

a. Semne şi simptome generale :

• alterarea stării generale

• febră sau subfebrilităţi fără context infecţios evident (datorită proliferatului leucemic)

• transpiraţii

• inapetenţă, scădere în greutate, dureri osoase.

b. Semne şi simptome datorate insuficienţei medulare :

• sindrom anemic (paloare, astenie, ameţeli, dispnee, palpitaţii, tahicardie);

• sindrom infecţios (angină ulcero-necrotică, infecţii diverse şi frecvente, febră);

• sindrom hemoragic (hemoragii cutanate şi mucoase).

***c. Semne şi simptome datorate proliferării leucemice* (sindromul tumoral) :**

• hipertrofie gingivală dureroasă (în special în formele M4 şi M5) ;

• hepatomegalie, splenomegalie (mai rar ca în LAL) ;

• adenopatii - sunt rare, prezente mai ales în formele M4, M5, putând atinge un volum tumoral impresionant şi pretând la confuzie cu limfoame, boală Hodgkin ;

• hematodermia sau leucemia cutis – infiltraţii blastice dermo-epidermice, sub formă de leziuni nodulare violacee, nedureroase (apar în 14 % din cazuri, mai ales formele monocitare, şi se asociază adesea cu alte infiltraţii extramedulare) ;

• sarcomul granulocitar sau cloromul (4 – 12 %) - tumoră unică cu localizare extramedulară predominant orbitară şi în sinusurile paranazale, dar şi în tubul digestiv, aparatul genitourinar, sâni, mediastin, pleură, peritoneu ;

• infiltrarea SNC (la diagnostic şi în recăderi) este mai rară ca în LAL. Apare mai frecvent la vârste tinere, în formele cu hiperleucocitoză şi în cele cu componentă monocitară. Poate fi asimptomatică sau se manifestă cu cefalee, paralizii de nervi cranieni sau masă expansivă intracraniană ;

• sindromul de leucostază apare la pacienţii cu forme hiperleucocitare. Este un sindrom cu risc letal crescut, caracterizat prin obstrucţia arteriolelor din circulaţia cerebrală şi pulmonară prin trombi blastici. În plan clinic, se asociază semne neurologice (ameţeli, tulburări vizuale, tinitus, ataxie, stare confuzională, delir, somnolenţă, stupoare, comă, prezenţa la examenul FO de edem papilar, dilataţii venoase, hemoragii retiniene şi hemoragii intracraniene) şi un sindrom de detresă respiratorie (dispnee cu tahipnee, hipoxie, infiltrate pulmonare, insuficienţă respiratorie). Mai rar, se poate asocia infarct miocardic, insuficienţă cardiacă, priapism, hiperuricemie cu insuficienţă renală. Reprezintă o urgenţă terapeutică.

2. Investigaţii paraclinice

a. Hemograma :

• hiperleucocitoză (peste 50 % din cazuri) cu predominanţa celulelor blastice cu granulaţii şi corpi Auer, la care se asociază pancitopenie pe liniile normale (anemie normocromă, normocitară, aregenerativă, neutropenie, trombopenie) ;

• forme cu pancitopenie şi absenţa celulelor blastice în sângele periferic (forme hipo- sau aleucemice) ;

• poate prezenta anomalii moderate, cum sunt monocitopeniile izolate, ambele cazuri necesitând o mielogramă;

• aceste rezultate impun realizarea unei puncţii medulare pentru a efectua :

* mielograma, examenul citochimic, imunofenotiparea celulelor blastice care permit diagnosticul pozitiv al LA şi clasificarea sa conform FAB (French-American- British);

* un cariotip şi un examen de biologie moleculară care aduc informaţii prognostice.

b. Mielograma :

• este indispensabilă pentru afirmarea diagnosticului

• mielograma evidenţiază în mod tipic :

o o măduvă bogată cu liniile celulare autohtone normale (granulocitară, eritrocitară şi megakariocitară) scăzute

o un infiltrat blastic adesea crescut (90%). Este necesară o infiltraţie de minimum 20% blaşti pentru stabilirea diagnosticului de LA potrivit noii clasificari OMS

o o diferenţiere reziduală uneori anormală (PN, monocite, megacariocite anormale)

o celulele blastice şi elementele de diferenţiere pot conţine granulaţii anormale precum corpii Auer :

■ rari în M1, M4 sau M5; frecvenţi în M2

■ foarte numeroşi, în « snopi », în LAM3 (promielocitare)

• Biopsia osteo-medulară (BOM) este rar indicată:

o în cazul unor puncţii-aspiraţii medulare dificile din cauza asocierii unei fibroze medulare (adesea în LAM7) sau în cazul unei măduve sărace

o BOM se impune pentru a permite aprecierea infiltraţiei blastice şi demonstrarea prezenţei unei mielofibroze.

c. Studiul citochimic

• se realizează pe frotiurile din sângele periferic sau medular

• are ca scop determinarea unei activităţi enzimatice caracterisitice în aceşti blaşti

• în LA mieloblastice este vorba de :

* studiul mieloperoxidazei (MPO) care confirmă caracterul mieloid al blaştilor prin punerea în evidenţă a granulaţiilor pozitive;

* studiul esterazelor inhibate de florura de sodiu (NaF) care confirmă prezenţa unui *contingent monoblastic* (M4 şi M5).

d. Imunofenotiparea blaştilor

• studiul markerilor antigenici de pe membrana sau citoplasma celulelor blastice se realizează cu ajutorul anticorpilor monoclonali care recunosc aceste antigene prin tehnica citometriei în flux

• principalii markeri mieloizi sunt CD13 şi CD33

• interesul imunofenotipării în LAM este de a :

- *diferenţia LAM foarte imature* (M0) de LAL, care prezintă markeri limfoizi
- confirma diagnosticul unor forme de LAM cu diagnostic morfologic dificil :
  - ■ LAM M6 : pozitivitate a glycoforinei A
  - ■ LAM M7 : pozitivitate a markerilor megakariocitari CD41, CD42, CD61

• fenotipajul are mai puţin interes pentru LAM decat pentru LAL

• în urma acestor examene, LAM pot fi clasate în 8 varietăţi FAB:

* LAM M0 cu diferenţiere minimă clasabilă prin imunofenotipaj

* LAM cu diferenţiere granulocitară (M1-fără maturaţie, M2 – cu maturaţie, şi M3 - promielocitară)

* LAM cu diferenţiere monocitară (M4 - mielomonocitară şi M5 - monoblastică)

* LAM M6 sau eritroleucemia

* LAM M7 sau megakarioblastică

e. Cariotip

• studiul cariotipului blaştilor arată, la 50-70% dintre pacienţi, anomalii cromozomiale

• interesul principal al cariotipului este valoarea prognostică

• anomaliile cu prognostic bun sunt :

o translocaţia ***t(15;17)*** prezentă în LAM3

- translocaţia ***t(8;21)*** prezentă la aproximativ 25% din cazurile cu LAM2
- inversiunea cromozomului 16 (***inv(16)***) sau translocaţia ***t(16;16)*** asociată unei

forme particulare de LAM4 cu eozinofile medulare anormale : LAM4Eo

- anomaliile cu prognostic rezervat sunt :
  - anomaliile complexe (≥ 5 anomalii)
  - anomaliile crs 5 şi/sau7 (monosomii –5 si -7, pierderi braţ lung 5q- si 7q-)
  - rearanjamente ale regiunii ***11q23,*** unde se găseşte oncogena MLL
  - translocaţia ***t(9;22)*** care indică transformarea blastică a unei LGC.

f. Biologie moleculară

- Examenele de biologie moleculară sunt sistematice, mai ales la pacientul tânăr.
- Au două obiective principale :
  - detectarea de transcripturi de fuziune corespunzătoare translocaţiilor frecvente
    - în practică, este vorba de ***t(15;17) (PML-RARA)***, ***t(8;21) (AML1-ETO)*** şi ***inv(16)/t(16;16) (CBFB-MYH11)***
    - diagnosticul şi deci prognosticul pot fi determinate chiar în caz de eşec al analizei cariotipului
  - căutarea de factori de prognostic noi, moleculari : mutaţii sau hiperexpresia unor oncogene (***FLT3, CEBPA, EVI1***…)
- Pe baza analizelor de biologie moleculară şi citogenetică, LAM pot fi clasate potrivit clasificării OMS care ţine cont de :
  - identificarea de anomalii citogenetice recurente
  - existenţa de semne de dismielopoieză asociate cu proliferarea blastică
  - antecedentele cu risc de LAM secundar (agenţi alkilanţi sau epipodofilotoxine: etoposide)
  - vechea clasificare FAB, dacă nu a fost găsit nici unul din criteriile enunţate mai sus.

g. Alte investigaţii

a) Bilanţ al hemostazei

- caută sistematic o coagulopatie de consum, cel mai adesea o CIVD
- examen al fundului de ochi pentru hemoragii retiniene
- bilanţul biologic caută :
  - dminuarea TP (TQ), alungirea aPTT
  - diminuarea fibrinogenului
  - D-dimeri şi produşi de degradare ai fibrinei şi fibrinogenului (PDF)

b) Evaluarea sindromului de liză

- un sindrom de liză tumorală poate fi prezent de la diagnostic, dar este, mai ales, prezent după iniţierea terapiei (prin distrugerea celulelor leucemice)
- bilanţul biologic caută :
  - LDH, uricemie : crescute
  - hiperfosforemie, hipo- apoi hipercalcemie

  - hiperkaliemie
  - creatininemie, uree plasmatică : insuficienţă renală
  - acidoză metabolică

c) Bilanţ al sindromului infecţios

- este bilanţul infecţios al unui pacient neutropenic sau care trebuie considerat ca atare (PN uneori nefuncţionale)
- în caz de febră (>38,5°C) :
  - hemoculturi
  - uroculturi
  - radiografie toracică
  - coproculturi
  - exudat faringian

➔ Aceste recoltări nu trebuie să întârzie iniţierea antibioterapiei.

d) Restul bilanţului :

- bilanţ biologic hepatic
- ionogramă sanguină
- dozare a lizozimului seric şi urinar (crescut în LAM cu componentă monocitară M4/5, asociat cu risc de tubulopatie care se însoţeşte de hipopotasemie)
- puncţia lombară este realizată (după dispariţia CIVD sau corectarea unei trombocitopenii) în caz de :
  - suspiciune a unei localizări neuro-meningee
  - LAM hiperleucocitar (>100.000/mmc)
  - LAM cu componentă monocitară

Bilanţ pre-terapeutic

a) Evaluarea funcţiei cardiace înainte de terapia cu antracicline :

- ECG
- echografie cardiacă sau măsurarea fracţiei de ejecţie ventriculară prin metode izotopice

b) Bilanţ pre-transfuzional

- grup ABO, Rhésus, fenotipaj complet
- căutarea de aglutinine neregulate (AN)
- serologii : HIV1 si 2, VHB, VHC, EBV şi CMV

c) Altele

- crioconservarea spermei
- tipaj HLA clasa I şi clasa II în biologie moleculară la pacientul tânăr (în vederea realizării unui transplant de celule suşă)

PROGNOSTIC

În absenţa oricărui tratament, evoluţia pacienţilor cu LAM este sistematic letală. Tratamentul citostatic antrenează remisiuni într-un procentaj variabil de cazuri cu o durată variabilă până la obţinerea unei vindecări. Deci tratamentul, respectiv obţinerea remisiunii,

sunt esenţiale pentru evoluţia ulterioară a pacienţilor. Studiile efectuate au evidenţiat existenţa unor factori care pot influenţa răspunsul terapeutic şi durata acestuia – factorii prognostici. Factorii prognostici definiţi sunt :

1. Factori legaţi de pacient :

- **vârsta de peste 60 ani şi sub 2 ani** – reprezintă unul din factorii cei mai importanţi
- **sexul** – nu pare un factor independent
- **patologiile asociate** – prezenţa lor poate antrena un procentaj crescut de decese în timpul tratamentului de inducţie

2. Factori legaţi de caracteristici ale LAM

- **formele secundare**
- **formele citologice** M0, M5, M6, M7, M3 varianta microgranulară
- **imunofenotipajul** : prezenţa CD34, CD15 sau absenţa CD13, CD14
- **cariotipul medular** – factor prognostic foarte important alături de vârstă :
  - prognostic bun : t(8;21), t(15;17)
  - prognostic intermediar : cariotip intermediar, anomalii de număr ca trisomia 8, monosomia 7, inv16, deleţii ale braţului lung al cromozomilor 7 şi 5, deleţii sau inversiuni ale ccromozomului 3, t(6;9)
  - prognostic rezervat : del 11q23, t(9;22), anomalii complexe

3. Factori legaţi de masa tumorală

- **hiperleucocitoza** (peste 40.000/mm^3) în momentul diagnosticului
- **sdr tumoral la diagnostic** – hepatomegalie, splenomegalie, adenopatii, hematodermie

4. Factori legaţi de rezistenţa celulelor leucemice la citostatice

- studiul *in vitro* al cineticii celulare şi apoptozei
- studiul *in vitro* al chimiosensibilităţii celulelor leucemice
- prezenţa unor markeri ai chimiorezistenţei – glicoproteina gp-170
- obţinerea sau nu a remisiunii complete şi durata până la instalarea acesteia

Au fost identificaţi şi o serie de factori care pot influenţa durata remisiunii : vârsta, hiperleucocitoza, sindromul tumoral, cariotipul, durata până la instalarea remisiunii.

TRATAMENT

- Pacientul este internat în serviciul de hematologie pentru :
  - îngrijirea şi tratamentul specific LAM
  - tratamentul complicaţiilor imediate ale LAM (infecţii, leucostază, CIVD, insuficienţă medulară)
  - tratamentul complicaţiilor terapiei din LAM (aplazie post-chimioterapie).
- Tratamentul LAM al adultului se bazează în mod esenţial pe chimioterapie.
- Strategia terapeutică cuprinde două etape principale :
  - tratamentul de inducţie al remisiunii complete şi

  - tratamentul postinducţie ➔tratamentul de consolidare sau de intensificare, tratamentul de întreţinere, grefa de celule stem hematopoietice.
- Scopul principal al tratamentului este obţinerea remisiunii complete/RC (= dispariţia semnelor clinice de infiltrare tumorală, dispariţia semnelor de insuficienţă medulară, absenţa celulelor blastice din sângele periferic şi o măduvă normală cu celule blastice sub 5%).

I. Tratamentul de inducţie

- Tratamentul de inducţie clasic asociază ***Cytosin Arabinozid*** (Aracytina, Cytosar) timp de 5-7 zile şi o antraciclină, cel mai adesea ***Daunorubicin*** timp de 2 - 3 zile consecutiv. Acest tip de asociere a fost denumit convenţional "2+5" sau "3+7", în funcţie de numărul de zile de administrare.
- Recent, au fost propuse pentru utilizare şi alte antracicline (sau agenţi intercalanţi) ca Amsacrina, ***Mitoxantron*** (Novantron), ***Idarubicina***.
- Se pot administra 1-3 cicluri în funcţie de obţinerea RC.
- Acidul trans-retinoic (ATRA) în LAM M3 (are efect diferenţiator şi pro-apoptotic asupra blaştilor).
- *Profilaxia recăderilor neuro-meningee* clasică trebuie rezervată numai cazurilor cu risc de implicare a SNC : copiii sub 2 ani, formele hiperleucocitare şi tumorale, formele citologice M4 şi M5.
- După cura de inducţie, se instalează aplazia medulară cu cortegiul său de complicaţii, perioadă care impune izolare, supraveghere şi tratament de susţinere (vezi mai jos).
- La ieşirea din aplazie, se face controlul medular :
  - în caz de remisiune completă, se trece la etapa următoare
  - în caz de răspuns incomplet, se aplică o cură de reinducţie, în general, similară cu prima.

II. Tratamentul post-remisiune (consolidare şi întreţinere)

- În mod clasic, se utilizau 2 - 4 cure de consolidare (folosind aceleaşi medicamente, în doze similare ca şi în inducţie) sau de intensificare (folosind medicamente diferite de cele utilizate în tratamentul de inducţie), urmate de un tratament de întreţinere etalat pe 2 - 3 ani.
- Protocoalele recente au renunţat la întreţinere şi preferă o terapie mai intensivă, apropiată de momentul obţinerii RC. Cel mai utilizat protocol constă în 2 - 4 cure ce asociază Aracitina în doze mari timp de 4 - 6 zile, cu Daunorubicină, Mitoxantronă sau Idarubicină.
- Dezvoltarea tehnicilor de grefă medulară a antrenat utilizarea acesteia la pacienţii cu LAM:
  - este rezervată pacienţilor tineri
  - este indicată în cadrul primei remisiuni complete la pacienţii cu risc (criterii în funcţie de echipe)
  - după o primă recădere, dacă o a doua remisiune completă este obţinută (la toţi ceilalţi pacienţi, dacă este posibil).

Tratamentul adjuvant al complicaţiilor

Se adresează complicaţiilor leucemiei şi celor antrenate de chimioterapie.

1. ***Tratamentul anemiei*** se realizează prin transfuzii cu masă eritrocitară atunci când Hb scade sub 7 g/dl. Iniţierea transfuziilor eritrocitare va ţine seama şi de toleranţa clinică a anemiei. Existenţa unor tare organice asociate poate antrena o toleranţă scăzută a anemiei cu decompensări (crize anginoase, atacuri ischemice tranzitorii...), obligând efectuarea transfuziilor la valori mai crescute ale hemoglobinei.

2. ***Tratamentul infecţiilor :***

- Infecţiile reprezintă complicaţia majoră la aceşti pacienţi.
- Pot surveni infecţii cu bacterii (stafilococi coagulazo-negativi, *Staphyloccoccus aureus, Streptoccoccus viridans, Escherichia coli, Klebsiella, Pseudomonas* ...), fungi (*Candida, Aspergillus*), virusuri (*Herpex simplex, Cytomegalovirus*).
- La aceşti pacienţi se recomandă izolarea în camere sterile sau cel puţin curate, cu limitarea vizitelor, igiena particulară a persoanelor care au acces, obiectelor şi alimentelor.
- Decontaminarea cavităţii bucale prin băi de gură şi gargarisme la 4 ore interval, alternativ cu soluţii de bicarbonat şi soluţii de clorhexidin (Plak-out sau Corsodyl).
- Decontaminarea digestivă cu Ciprofloxacin 250 mg x 2/zi sau/şi Cotrimoxazol 480 mg x 2/zi. Se poate asocia Fluconazol 100 mg/zi (profilaxie antifungică) şi Acyclovir 400 mg x 2/xi.
- Antibioterapia va fi instituită în momentul în care temperatura depăşeşte 38°C după efectuarea prelevărilor bacteriologice. Se demarează empiric cu o asociere cu spectru larg care să acopere şi bacteriile gram negative: beta-lactamină/cefalosporină de a treia generaţie + aminoglicozid +/- antistafilococic (Vancomicina, Fosfomicina). În caz de persistenţă a febrei după 48 de ore, se asociază antistafilococicul, iar ulterior un antifungic (Amfotericina B în doze de 1 – 2 mg/kg/zi sau Fluconazol (Diflucan) în doze de 200 mg/zi). Eventual, se asociază tratament antiviral (Aciclovir pentru Herpes sau Foscarnet pentru Cytomegalovirus).
- Tratamentul profilactic antibiotic nu se mai recomandă, părând a avea mai multe dezavantaje decât avantaje.
- Transfuziile de concentrat leucocitar se recomandă doar în infecţii grave, abcese, celulite, ce nu par stăpânite de antibioterapie ; transfuziile determină reacţii alergice şi au eficacitate de scurtă durată.

3. ***Tratamentul hemoragiilor :***

- In caz de trombocitopenie : concentrat plachetar multi sau monodonor sub control al anticorpilor antiplachetari, pentru menţinerea trombocitelor peste 20.000/mm^3 sau peste 50.000/mm^3 la cei cu tare ce favorizează hemoragiile. Studiile mai recente au indicat o valoare prag de 10.000/mm^3 pentru iniţierea transfuziei.
- In caz de CIVD :

- transfuzii de concentrat trombocitar pentru menţinerea acestora peste 20.000/mm^3 la pacienţii asimptomatici şi peste 50.000/mm^3 la cei care sângerează
- administrarea de crioprecipitat sau fibrinogen liofilizat pentru menţinerea fibrinogenului peste 100 mg/dl

- administrarea de plasmă proaspătă congelată pentru corectarea TQ şi aPTT la cei cu sângerare activă
- în caz de absenţă a controlului sângerării şi corecţiei parametrilor coagulării se va asocia Heparină în doze de 500 UI/oră
- pentru cei care continuă să sângereze sub Heparină, se vor asocia droguri antifibrinolitice ca Acid epsilon-amino-caproic (AEAC) sau acid tranexamic

4. ***Reechilibrare hidro-electrolitică*** şi acido-bazică sub controlul ionogramei sanguine şi urinare

5. ***Profilaxia sindromului de liză şi a nefropatiei urice*** provocate de distrucţia celulară masivă sub acţiunea citostaticelor, mai ales în formele hiperleucocitare :

- aport lichidian I.V. de minimum 2-3 l/24 h cu asigurarea unei diureze corespunzătoare
- alcalinizarea urinei prin administrarea de bicarbonat de sodiu 4,2% 50cc la fiecare litru de ser glucozat sau, 14%0 o treime din aportul lichidian ;
- urate-oxidază 1-3 fiole/zi (1f=1.000 UI) – determină degradarea acidului uric. Ulterior se continuă cu Allopurinol 100-300 mg/zi. În absenţa primului, se poate utiliza de la început Allopurinol în doze de 400 – 600 mg/zi.

6. ***Combaterea leucostazei în formele hiperleucocitare :***

- leucafereză până în momentul în care numărul de celule blastice scade sub 50.000/mm^3
- hidratare + alcalinizare
- hidroxiuree în doze mari sau demararea rapidă a tratamentului de inducţie
- evitarea transfuziilor eritrocitare care pot agrava vâscozitatea sanguină
- transfuziile la aceşti pacienţi, mai ales la cei candidaţi la allografă, se vor face cu produse provenind de la donatori verificaţi care sunt Cytomegalovirus negativi. În plus, se vor evita donatorii familiali (risc de alloimunizare cu afectarea procesului de grefare ulterioară).

EVOLUŢIE

- o remisiune completă este obţinută în 75% din cazuri
- supravieţuirea la 5 ani este :
  - în medie de 30 - 40 %
  - aprope de 50% la pacienţii cu o citogenetică favorabilă de tip t(8;21) şi inv(16)
  - 80% în LA promielocitare (M3)
- o supravieţuire fără recădere la 5 ani este considerată ca o vindecare
- în afara unei recăderi, complicaţiile tardive sunt legate de tratament:
  - cardiomiopatie datorată antraciclinelor
  - sterilitate, menopauză precoce
  - cancere şi leucemii secundare

BOLI MIELOPROLIFERATIVE
LEUCEMIA MIELOIDĂ CRONICĂ (LMC)

GENERALITĂŢI

Leucemia mieloidă cronică (LMC) aparţine grupului sindroamelor mieloproliferative cronice. LMC reprezintă o proliferare monoclonală datorată unei mutaţii survenite la nivelul unei celule stem pluripotente. Celulele leucemice rezultate păstrează capacitatea de diferenţiere şi maturare, cât şi capacitatea funcţională (cel puţin parţial), dar au o capacitate proliferativă crescută, predominant pe linia granulocitară. Rezultă creşterea numărului lor în măduvă şi trecerea lor în sângele periferic. Boala se caracterizează prin creşterea importantă a seriei granulocitare, în toate stadiile de maturaţie.

EPIDEMIOLOGIE

- LMC reprezintă 15–20 % din cazurile de leucemie la adult.
- Incidenţa LMC este de aproximativ 10-15 cazuri noi, pe an, la un milion de indivizi.
- Incidenţa creşte progresiv cu vârsta.
- Mediana vârstei în momentul diagnosticului este între 50 şi 60 de ani (potrivit diverselor serii publicate), dar boala poate apărea la orice vârsta.
- Se semnalează, în ultimii ani, o creştere a incidenţei la vârste tinere.
- Frecvenţa bolii este aproximativ egală la cele două sexe, cu un *sex ratio* de 1,4-2,2 în favoarea sexului masculin.

ETIOLOGIE

Factorii cauzali rămân necunoscuţi în majoritatea cazurilor. Implicarea radiaţiilor ionizante ramâne stabilită. Mai recent, au fost sugerate ca fiind implicâte expunerea la benzen şi fumatul, dar studiile extensive nu au reuşit s-o confirme.

PATOGENIE

- LMC reprezintă o anomalie dobândită, care implică celula stem hematopoietică, caracterizată printr-o anomalie citogenetică - translocaţia reciprocă între braţele lungi ale cromozomilor 22 şi 9; t(9;22). Translocaţia duce la apariţia unui cromozom 22 mai scurt decât perechea sa, fapt semnalat pentru prima data de către Nowell şi Hungerford, denumit ulterior cromozomul Philadelphia (Ph), după oraşul unde a fost descoperit.
- Aceasta translocaţie repoziţionează oncogena denumită *abl* de pe braţul lung al cromozomului 9 pe braţul lung al cromozomului 22, în regiunea *bcr*. Rezultă astfel o genă de fuziune *bcr-abl* care codează o proteină himerică, cu activitate tirozin-kinază crescută. Expresia acestei proteine conduce la dezvoltarea fenotipului LMC printr-un proces înţeles doar parţial.
- **Proteina himerică, de fuziune, BCR-ABL are o activitate tirozin-kinazică mult crescută (net superioară echivalentei sale normale, c-abl) şi o capacitate crescută de**

autofosforilare. Datorită activităţii sale, este capabilă să fosforileze câteva substrate, activând o serie de cascade de semnale intracelulare ce influenţează procesul de creştere şi diferenţiere celulară.

- Consecinţele prezenţei BCR-ABL, prin intermediul afectării proliferării şi diferenţierii celulare, cât şi a apoptozei vor fi :
  - proliferare şi expansiune anormală şi necontrolată a celulelor progenitoare şi precursoare posesoare de Ph1, cu inhibiţia apoptozei;
  - expansiunea afectează predominant linia mieloidă, dar şi cu implicarea liniilor eritroidă megakariocitară şi limfoidă;
  - deficitul de molecule de adeziune cu eliberarea prematură în circulaţie a celulelor precursoare şi dirijarea lor spre situs-uri extramedulare;
  - tendinţa de a achiziţiona, în evoluţie, noi anomalii cromozomiale care vor permite trecerea spre faza accelerată şi, în final, cea blastică.

DIAGNOSTIC

Manifestări clinice

a. Modalităţi de debut :

- Instalarea este adesea insidioasă. Tot mai frecvent (25 – 37 % din cazuri), descoperirea este întâmplătoare, ocazionată de un examen sistematic al hemogramei. De obicei, simptomele apar când leucocitele depăşesc cifra de 30.000/mm^3.
- Debutul clinic poate fi marcat de semne funcţionale precum : astenie, anorexie, scădere în greutate, senzaţie de jenă în hipocondrul stâng, senzaţie de plenitudine gastrică sau de saţietate rapidă, balonări, tulburări de tranzit, alterare a stării generale, datorate anemiei, splenomegaliei sau unui metabolism accelerat.
- Uneori, debutul este marcat direct de complicaţii : criză de gută, infarct splenic, priapism, hemoragii, tromboze.

b. Examenul clinic evidenţiază :

- Splenomegalie (70–85%) - semn clinic major, adesea monstruoasă, putând fi uneori corelată invers proporţional cu durata fazei cronice. La peste 50% dintre pacienţi, splina este palpabilă la peste 5 cm sub rebordul costal la momentul diagnosticului. Mărimea splinei se corelează cu numărul de leucocite circulante, splinele cele mai mari fiind observate la pacienţii cu hiperleucocitoze majore. O splină foarte mare este adesea semnul de transformare în criza blastică.
- Hepatomegalie - este semnalată mai rar, în 20 – 45 % din cazuri.
- Adenopatiile sunt rar semnalate, prezenţa lor putând semnifica un prognostic rezervat. Apariţia lor semnifică adesea instalarea fazei accelerate.
- Dureri la compresiunea sternului în dreptul spatiului V intercostal (semnul lui Craver), febră, purpură.
- Mai rar, la pacienţii cu hiperleucocitoză majoră pot apărea manifestări de hipervâscozitate sanguină (leucostază) cu cefalee, ameţeli, vertije, tinitus, tulburări ale stării de conştienţă cu

stare de confuzie, neuropatie centrală şi periferică, tulburări de vedere datorate hemoragiilor retiniene, edemului papilar şi stazei venoase, gangrenă a extremităţilor, priapism, accidente vasculare cerebrale, insuficienţă cardio-respiratorie, necroză medulară.

Investigaţii paraclinice

a. Hemograma – este sugestivă pentru diagnostic. Evidenţiază :

- Hiperleucocitoza, cel mai adesea majoră, peste 100.000/mm^3 în 70% din cazuri, cu 30-40% neutrofile. Analiza frotiului de sânge periferic pune in evidenţă o mielemie importantă, cu prezenţa precursorilor mieloizi în toate stadiile de maturaţie : mieloblaşti, promielocite, mielocite, metamielocite şi nesegmentate.
- Bazofilele sunt de obicei crescute, dar mai puţin de 10 – 15 % din pacienţi au procentaje de peste 7 %. Creşterea lor spre 15 – 20 % survine în faza accelerată.
- Eozinofilele sunt crescute, dar în mai mică măsură decât bazofilele.
- Anemia normocromă, normocitară, este adesea discretă până la moderată.
- Trombocitoza - 500.000–600.000/mm^3, rar mai importantă - este semnalată la 35-50% dintre pacienţi. Asociază adesea anomalii funcţionale, de unde posibilitatea de apariţie a unor manifestări trombotice sau, dimpotrivă, hemoragice.

b. Mielograma : arată o măduvă bogată, hiperplazică, cu o celularitate de 75–90% şi reducerea procentului de adipocite medulare. Seria granulocitară este net predominantă (80-90%), cu toate etapele de maturaţie, cu o deviere la stânga a curbei de maturaţie mult mai evidentă ca în periferie. Adesea, se remarcă o hiperplazie megakariocitară şi modificări displazice pe toate liniile celulare. Puncţia medulară nu este necesară pentru diagnostic decât pentru realizarea cariotipului care pune în evidenţă cromozomul Ph1 în 90% din cazuri (markerul citogenetic al bolii) şi este eventual utilă pentru diagnosticul diferenţial.

c. Biopsia medulară - confirmă hiperplazia ţesutului hematopoietic şi absenţa fibrozei mutilante prezentă în osteomielofibroza cu metaplazia mieloidă a splinei.

d. Alte investigaţii :

- *fosfataza alcalină leucocitară (FAL)* este evident scăzută, chiar absentă, în 90% din cazuri. În caz de infecţii, procese inflamatorii, sarcină, evoluţia spre faza acutizată, apariţia unei a doua neoplazii sau inducerea terapeutică a remisiunii hematologice, FAL revine la normal sau creşte la niveluri patologice;
- creşterea importantă a concentraţiei serice a *vitaminei B12* şi a *lizozimului* seric;
- examenul hemostazei indică o *trombopatie dobândită,* cu alungirea TS şi scăderea adezivităţii şi agregabilităţii plachetare. Este posibilă o alungire a Timpului de protrombină (TQ) prin asocierea unui deficit de factor V;
- creşterea *uricemiei* şi *uricozuriei*, creşterea LDH;
- creşterea histaminemiei şi a metaboliţilor săi urinari.

e. Deteminarea prezenţei Cromozomului Philadelphia (sau a transcriptului BCR-ABL)

- se realizează prin tehnici de citogenetică clasică şi de biologie moleculară (tehnica FISH şi PCR)

- studiul cariotipului celulelor tumorale prin examenul citogenetic clasic cu punerea în evidenţă a cromozomului Ph – element diagnostic hotărâtor şi pentru decizia terapeutică;
- studiul cariotipic al celulelor din măduva osoasă necesită prezenţa de celule care se divid fără pierderea viabilităţii, pentru că sunt necesare celule care intră în mitoză pentru a obţine cromozomi bine individualizaţi pentru a fi identificaţi. Este o metodă lentă, laborioasă.
- studiul în biologie moleculară al cariotipului pentru confirmarea translocaţiei la cei Ph+, şi evidenţierea ei la cei Ph- - se utilizează tehnicile de FISH (*fluorescence in situ hybridization*) şi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) sau RT-PCR (tehnică ce foloseşte revers transcriptaza şi poate depista transcriptul BCR-ABL din sânge) cantitativ şi calitativ. Sunt tehnici mai performante, care sunt utile în diagnosticul cazurilor Ph1- în examenul citogenetic clasic, pentru monitorizarea răspunsului terapeutic, depistarea bolii minime reziduale.
- Tehnicile de hibridizare *in situ* cu fluorescenţă (FISH) utilizează sonde marcate care sunt hibridizate cu cromozomii în metafază sau nuclei în interfază, sondele hibridizate fiind identificate prin fluorescenţă. Aceste tehnici sunt rapide şi sensibile, putând detecta anomalii numerice sau structurale.

Diagnostic diferenţial

- ***Reacţii leucemoide*** în infecţii severe, cancere, mari sindroame inflamatorii, polinucleoza tabagicului : mielemia este mai redusă, cu forme mai mature, FAL este crescută, se onservă absenţa anomaliilor citogenetice.
- ***Osteomielofibroză*** : debutul este mai tardiv, cu prezenţa unei fibroze medulare colagenice mutilante în măduvă (biopsie), asociată cu o metaplazie mieloidă în splină, splenomegalie enormă, eritremie şi eritrocite în lacrimă pe frotiul sanguin, absenţa Ph1.
- ***Poliglobulie primitivă, trombocitemie esenţială*** : leucocitoza şi mielemia sunt moderate, absenţa Ph1.
- ***Leucemii acute*** : prezenţa hiatusului leucemic pe frotiul din sângele periferic, blastoza medulară depăşeşte 30%, asocierea unei insuficienţe medulare cu pancitopenie manifestă.
- ***Leucemie mielo-monocitară cronică*** : în practică, se disting două forme : sindromul mielo-monocitar cronic aparţinând sindroamelor mielodisplazice şi leucemia mielo-monocitară cronică aparţinând sindroamelor mieloproliferative. In acest ultim caz, masa tumorală este uneori mai voluminoasă, cu serozite, atingeri cutanate..., şi asociază semne de insuficienţă medulară (anemie, trombopenie). Hemograma evidenţiază anemie, leucocitoză cu monocitoză şi mielemie moderată, trombopenie. Mielograma şi biopsia medulară arată asocierea de semne de dismielopoieză şi de mieloproliferare. Diferenţierea se face, în principal, pe absenţa cromosomului Ph.
- ***Leucocitoză în inflamaţiile cronice*** : infecţiile bacteriene severe sau persistente, necrozele, escarele, neoplaziile se pot asocia cu leucocitoză reactivă, dar mielemia este redusă (5%), biopsia medulară este normală, fosfataza alcalină leucocitară este crescută, iar examenul citogenetic arată absenţa cromosomului Philadelphia.
- ***Tabagism cronic*** : poate antrena uneori o hiperleucocitoză cu polimorfonucleare neutrofile.

EVOLUȚIE

Evoluția spontană a bolii, în absența tratamentului, este progresivă, cu o mediană de supraviețuire de 3-5 ani. Evoluția bolii cuprinde adesea două faze, uneori trei :

❖ ***faza cronică***, mielocitară, în care hiperactivitatea mielopoietică de la nivelul măduvei osoase și splinei, conduce la o hiperleucocitoză cu mielemie și cu un procent important de polinucleare cu funcție conservată. Această fază este, în general, controlată de terapia convențională, dar cu menținerea unui procentaj scăzut de celule conținând cromosomul Ph. În timp, eficacitatea terapeutică diminuează, astfel că, după un interval de 2 până la 6 ani, evoluează spre :

❖ ***faza de accelerare,*** caracterizată, adesea, prin semne de insuficiență medulară și o mai mare rezistență la tratamentul convențional. Această fază nu este obligatorie, fiind urmată, relativ rapid, în 6-18 luni de :

❖ ***faza de acutizare*** sau ***transformare blastică***, caracterizată prin semne de insuficiență medulară și semne de sindrom tumoral, cu o evoluție letală în 3-6 luni.

1. Faza cronică – descrisă mai sus

2. Faza accelerată

Faza accelerată este o fază de tranziție spre transformarea blastică. Durata mediană este de 3 – 9 luni. Această etapă este destul de imprecis caracterizată. Ea se poate manifesta :

- ***clinic*** : pacienții pot fi asimptomatici, dar mai frecvent acuză febră, alterarea stării generale, scădere în greutate, transpirații nocturne, dureri osoase, creșterea progresivă de volum a splinei. Semnele și simptomele sunt tot mai greu de controlat de către tratamentul uzual.
- ***laborator*** : hemograma evidențiază o hiperleucocitoză dificil controlabilă de tratamentul standard, cu anomalii ale celorlalte linii celulare (anemie progresivă, trombocitopenie sau trombocitoză), asociind creșterea procentului de eozinofile și bazofile. Procentul de blaști crește în sânge și măduvă, fără a depăși cifra de 20% în măduvă (mieloblaști + promielocite > 30 %, în măduvă).
- ***citogenetică*** : examenul cariotipului evidențiază apariția de anomalii cromosomiale suplimentare la crs Ph. Mai frecvent întâlnite sunt trisomia 8, 9, 19, 21, izocromozomul 17, un al doilea crs Ph.

3. Faza de acutizare

Este modul constant de evoluție a bolii după 1-10 ani. Aproximativ 20 – 40 % dintre pacienți evoluează direct, fără a trece prin faza de accelerare. Se manifestă prin :

- astenie, anorexie, scădere în greutate, febră, transpirații, prurit ;
- instalarea unei insuficiențe medulare cu anemie, trombopenie, cu număr variabil de leucocite și celule blastice circulante. Aceste fenomene pot avea drept consecință apariția de complicații infecțioase, hemoragii cutaneo-mucoase, infiltrări extramedulare : adenopatii, tegumente, noduli subcutanați, infiltrarea SNC cu manifestări neurologice.
- eozinofilele și mai ales bazofilele cresc în sânge (bazofile peste 20 %). Bazofilia extremă se poate asocia cu hiperaciditate și ulcer peptic.

- în măduvă, celulele blastice reprezintă peste 20% din celulele medulare ;
- creșterea scorului FAL ;
- apariția de anomalii citogenetice suplimentare – aproximativ 70 – 80 % din cei intrați în faza blastică posedă anomalii citogenetice adiționale cromosomului Ph. Acestea sunt hiperdiploidie (68 %), pseudodiploidie (23 %), hipodiploidie (8 %), trisomie 8 (50 %), duplicare Ph (40 %), izocromosom 17 (25 %), pierderea cromosomului Y.

Transformarea blastică poate fi medulară sau extramedulară, cu apariția de tumori localizate (pseudocloroame). Acestea pot avea diverse localizări : vertebrală, ganglionară, pleurală, cutanată... Transformarea poate fi mieloblastică (60%), luând toate aspectele clinice și biologice de leucemie acută mieloblastică, limfoblastică (25%), cu un prognostic și un răspuns terapeutic mai bun și, mai rar, în leucemia nediferențiată (15%).

COMPLICAȚII

Sunt datorate proliferării leucemice sau tratamentului :

- anemie, infecții (rare în faza cronică)
- hemoragii (datorate trombopatiei asociate) sau tromboze (priapism)
- complicații ale splenomegaliei - infarct splenic, ruptură splenică
- apariția de adenopatii (prognostic negativ)
- complicații pulmonare - infarct, infecții
- complicații osoase - dureri, distrucții, hipercalcemie
- complicații SNC - leucostază, hemoragii, tromboze, infiltrații subarahnoide
- complicații metabolice - crize de gută, litiază urinară.

PROGNOSTIC

Pacienții afectați de LMC nu constituie o populație omogenă, iar durata fazei cronice este foarte variabilă de la un pacient la altul. Durata mediană a fazei cronice este de 5 ani, dar ea variază de la câteva luni până la 10 ani. Astfel, determinarea factorilor de prognostic în LMC a prezentat întotdeauna un interes major atât pentru a prognoza durata fazei cronice la fiecare caz în parte, cât mai ales pentru alegerea strategiei terapeutice.

De-a lungul timpului, au fost identificați o serie de factori cu valoare prognostică variabilă. Având în vedere multitudinea acestor factori, **Sokal** a propus, în urma unor studii multicentrice, o ecuație ce permite obținerea unui indice de risc relativ.

IP Sokal = exp (0.011 (vârsta - 43) + 0 .0345 (splina - 7.5 cm) + 0.188 [(trombocite/700)^2 - 0.563]+ 0.0887 (% blaști în sânge - 2.1)

Indicele împarte bolnavii în : cei cu risc crescut (>1,2), intermediar (0,8-1,2) sau scăzut (<0,8). Scorul Sokal rămâne scorul prognostic cel mai larg utilizat. Acesta permite estimarea medianei de supraviețuire pentru fiecare grup de pacienți ca modulare a terapiei.

Scorul **Hasford** a fost creat în urma analizei răspunsului la pacienţi trataţi cu interferon. Scorul **Hasford** (sau scorul Euro) se calculează folosind următoarea formulă : **(0.6666 x vârsta [0 când< 50 ani; 1 în rest]) + (0.0420 x splina [cm]) + (0.0584 x blaşti în sânge [%]) + (0.0413 x eozinofile [%]) + (0.2039 x bazofile [0 cand< 3%; 1 in rest]) + (1.0956 x trombocite [0 cand < 1.500.000/mmc; 1 in rest]) x 1000)**. Au fost identificate trei grupe de risc : scăzut (scor ≤ 780), intermediar (scor 781 – 1480) şi înalt (scor ≥ 1481).

Scorul **EUTOS** (*The European Treatment and Outcome Study*) a fost creat în urma analizei răspunsului la pacienţi trataţi cu imatinib. Scorul se aplică la diagnostic, înainte de începerea tratamentului. Scorul EUTOS se calculează prin formula **(7 x bazofile [%]) + (4 x splina [cm])**. Au fost identificate două grupe de risc : scăzut (scor < 87) şi înalt (scor ≥ 87).

TRATAMENT

- Tratamentul eficient al LMC trebuie să realizeze două obiective principale :
  - o să controleze manifestările hematologice ale bolii (respectiv să asigure citoreducţia pentru a evita complicaţiile trombotice care pot rezulta din numărul crescut de neutrofile circulante) şi să prevină progresia bolii în faza blastică, prelungind astfel durata de supravieţuire ;
  - o suprimarea clonei patologice cu Ph+ trebuie să reprezinte obiectivul oricărei strategii terapeutice.
- Răspunsul terapeutic la pacienţii cu LMC se apreciază la nivel hematologic, citogenetic (definit în funcţie de procentajul cel mai redus de mitoze Ph1+ observat într-un moment oarecare al tratamentului) şi molecular (în funcţie de nivelul transcriptului) după cum urmează:

↳ ***răspuns hematologic complet*** = normalizarea hemogramei (GA < 10.000/mmc, Tr < 450.000/mmc şi formula leucocitară corectă fără elemente precursoare) şi dispariţia splenomegaliei ;

↳ ***răspuns hematologic parţial*** = menţinerea unor anomalii ale hemogramei cu dispariţia splenomegaliei sau normalizarea hemogramei cu persistenţa splenomegaliei ;

↳ ***răspuns citogenetic*** =
  - o major (complet) = absenţa Ph1 pe 100 metafaze studiate pe cariotip
  - o parţial – dacă se regăsesc 1 - 34% metafaze pozitive Ph1
  - o minor – dacă se regăsec 35 - 90 % metafaze anormale ;

↳ ***răspuns molecular major*** (RMMaj) = scăderea cu 3 log a nivelului *BCR-ABL/BCR* comparativ cu valoarea mediană pre-tratament;

↳ ***răspuns molecular "complet"*** (RMC) = BCR-ABL nedetectabil sau scădere BCR-ABL/BCR cu > 4.5 log.

1. Modalităţi terapeutice :

A. Tratamentul convenţional: până în 1980, Hidroxiureea şi Busulfan-ul au fost agenţii cei mai eficaci în tratamentul pacienţilor cu LMC. Asigurau un bun control al bolii cu toxicitate minimă, la un preţ scăzut.

- *Busulfan (BU)* – este un agent alkilant utilizat în mod tradiţional pentru a menţine leucocitele sub 15.000/mmc. Totuşi, efectul mielosupresor poate surveni şi persista mult timp, ceea ce face dificilă utilizarea acestui drog. Utilizarea pe termen lung poate antrena fibroză pulmonară, hiperpigmentare şi supresie medulară prelungită (săptămâni-luni).
- *Hidroxiuree (HU)* – inhibitor al deoxinucleotid sintetazei, este agentul mielosupresor cel mai utilizat pentru obţinerea remisiunii hematologice. Iniţial, hemograma este urmărită la fiecare 2-4 săptămâni, apoi doza este ajustată în funcţie de numărul de leucocite şi trombocite. Majoritatea pacienţilor obţin remisiune hematologică completă în 1-2 luni. Mielosupresia indusă este de scurtă durată şi redresează rapid, după reducerea dozelor sau oprirea tratamentului. Menţinerea terapiei cu hydroxiuree nu conduce decât rareori la răspunsuri citogenetice sau moleculare.

Ambii agenţi antrenează remisiuni hematologice în 70-80% din cazuri, dar fără răspunsuri citogenetice, astfel încât evoluţia generală a bolii nu este influenţată. Totuşi, studii comparative asupra celor două citostatice au evidenţiat superioritatea hidroxiureei în materie de toleranţă, toxicitate şi, mai ales, durată de supravieţuire.

B. Grefa de celule suşă hematopoietice :

Grefa allogenică reprezintă la ora actuală singura modalitate terapeutică cu potenţial curativ al LMC, cu creşterea probabilităţii de supravieţuire la 5 ani de 81%. Rămân doi factori limitativi importanţi : vârsta pacientului - existenţa unui donator potenţial.

- grefonul poate fi reprezentat de măduvă, de celulele suşă hematopoietice recoltate din sângele periferic prin citaferează după stimularea cu factori de creştere (asigură o reconstituire hematologică mai rapidă) sau (mai nou) recoltate din sângele cordonului ombilical ;
- se preferă grefonul provenit de la o rudă compatibilă (fratrie), dar, în lipsa acestuia, se poate recurge la un donator neînrudit, dar compatibil, sau o rudă parţial compatibilă ;
- rezultatele sunt influenţate de vârsta pacientului, de intervalul de timp de la diagnostic până la realizarea grefei şi de tratamentele administrate anterior ;
- cele mai bune rezultate se obţin la pacienţii sub 20 ani, aflaţi în faza cronică a bolii, în primul an de la diagnostic;
- rezultatele cele mai bune se obţin când grefa se practică în primul an de la diagnostic;
- morbiditatea şi mortalitatea legate de grefă se datorează, în principal, reacţiei «grefă contra gazdă», alături de toxicitatea terapiei, de condiţionare şi de infecţii.

C. Interferon (IFN) - este utilizat din 1982 în tratamentul LMC:

- mecanismul de acţiune este incomplet înţeles
- IFN poate induce remisiune hematologică completă la 50-70% din pacienţii trataţi în prima intenţie, iar la 56% dintre ei induce remisiuni citogenetice, din care 10–35% remisiuni majore şi 10–25 % remisiuni complete
- rezultatele sunt superioare când debutul tratamentului este precoce, antrenând un răspuns net superior în faza cronică faţă de cei aflaţi în faza accelerată
- doza optimă este de 5 MU/m2/zi
- profilul toxic acut al IFN se caracterizează în primul rând printr-un sindrom pseudogripal cu febră, frisoane, curbatură, rinoree, astenie majoră, anorexie. Manifestările pot fi prevenite sau reduse prin administrarea de Paracetamol 1.000 mg cu 30 minute înainte de administrarea interferonului şi eventual cu 30 minute după interferon
- utilizarea pe o durată mai lungă poate antrena toxicităţi cronice precum : astenie persistentă, scădere în greutate, neurotoxicitate, sindrom depresiv mergând uneori până la tendinţe de suicid (se recomandă antidepresive triciclice), insomnie, alopecie, hipoplazie medulară, manifestari de tip colagenotic, anemie sau trombopenie autoimune
- supravegherea răspunsului citogenetic demarează la 6 luni de la începerea tratamentului şi se realizează la fiecare 3 luni.

D. Imatinib

- Imatinib este un agent terapeutic având ca acţiune specifică inhibarea tirozin-kinazei BCR-ABL şi a unora dintre receptorii tirozin-kinază din subgrupul III (receptorul c-kit, receptorul PDGF (*platelet-derived growth factor*) şi receptorul factorului celulelor stem).
- Imatinib acţionează prin blocarea legării ATP pe tirozin-kinaza BCR-ABL, inhibând astfel acţiunea enzimei. În absenţa activităţii tirozin-kinazice a BCR-ABL, substratele nu mai pot fi fosforilate cu întreruperea evenimentelor următoare şi, deci, a proliferării aberante.
- Efecte adverse : mielosupresie (dependentă de doză), hepatotoxicitate, edeme (predominant periorbitare), leziuni cutanate (rash maculopapular, rash descuamativ sever), greţuri, dureri osoase, articulare, musculare, diaree.
- Doza recomandată este de 400 mg/zi la pacienţii aflaţi în faza cronică şi de 600 - 800 mg/zi la pacienţii aflaţi în faza accelerată sau de transformare blastică. Doza se administrează într-o singură priză, în timpul mesei, asociind ingestia a cel puţin 250 ml apă.
- Tratamentul cu doza de 400 mg/zi la pacienţii cu LMC Ph1+ la diagnostic antrenează răspuns cytogenetic complet la 70% dintre pacienţi, iar supravieţuirea la 3 ani este de peste 94%. Utilizarea de doze de 800 mg/zi poate antrena creşterea ratei răspunsului cytogenetic complet la 89%, iar răspunsul molecular major este de 70%.
- Reprezintă terapia standard, de primă intenţie la pacienţii cu LMC.
- Răspunsul molecular major este scopul tratamentului şi este determinat prin PCR. Continuarea terapiei cu imatinib este importantă deoarece 20% dintre pacienţi pierd răspunsul

citogenetic cu o rată de 1.4 persoane/100 anual. Aceasta se datorează problemelor de complianţă şi toleranţă.

- Pacienţii trataţi cu imatinib pot dezvolta rezistenţă prin mai multe mecanisme precum supraexpresia BCR/ABL şi mutaţii în gena abl. Rezistenţa poate fi depăşită fie prin creşterea dozelor, fie dezvoltând noi molecule mai selective sau droguri fără rezistenţă încrucişată (vezi noile medicamente).

E. Noi terapii

1. **Inhibitorii de tirozin-kinază (BCR/ABL) de a doua şi a treia generaţie** sunt inhibitori mult mai puternici decât imatinib. Pot antrena răspunsuri citogenetice şi moleculare mai precoce şi la un număr mai mare de pacienţi cu o supravieţuire îmbunătăţită. Mai mult, prezintă şi activitate împotriva mutaţiilor rezistente care survin sub imatinib.

- ***Dasatinib*** este un inhibitor de multiple tirozin-kinaze. Se leagă la ambele conformaţii – activă şi inactivă – ale domeniului kinazic abl. Este util la pacienţii rezistenţi la imatinib. Este aprobat în prezent ca terapie de primă linie. Doza recomandată este de 100 mg/zi în faza cronică sau de 70 mg x 2/zi în faza accelerată şi blastică. Efectele adverse cele mai frecvente sunt retenţia de lichide, pleurezii, diaree, rash cutanat, cefalee, hemoragii, astenie, dispnee, mielosupresie.
- ***Nilotinib*** este un inhibitor înalt selectiv pentru kinaza BCR/ABL. Este aprobat la pacienţii cu LMC în primă linie. Doza recomandată este de 400 mg x 2/zi. Toxicitate redusă. Indicat şi la pacienţii rezistenţi, recăzuţi sau cu intoleranţă la imatinib.
- ***Bosutinib*** este un inhibitor de tirozin-kinază atât pe kinaza Bcr-Abl, cât şi pe alte familii de kinaze precum Src, Lyn, si Hck. Inhibă 16-18 forme de mutaţii rezistente la imatinib.
- ***Ponatinib*** este un inhibitor de kinaze indicat la pacienţii cu LMC şi la cei cu LAL Ph+ rezistente sau intolerante la imatinib, cat şi la cei cu o mutaţie rezistentă la toţi ceilalţi inhibitori T315I.

2. **PEG-interferon** – este un interferon modificat structural prin introducerea unui copolimer de polietilen glicol, ceea ce creşte timpul de înjumătăţire seric. Preparatul poate fi administrat săptămânal şi nu cotidian, cu toleranţă superioară.

3. **Homoharringtonina** - este o substanţă alkaloidă, derivată din *Cephalotaxus fortuneii*, utilizată pentru prima dată de medicii chinezi. Se utilizează în doze de 2,5 mg/m^2/zi în perfuzie continuă, timp de 14 zile, ca tratament de inducţie, apoi 7 zile pe lună. Se utilizează singură sau în asociere cu Cytosar. Studiile au arătat obţinerea a 70 % remisiuni hematologice complete cu 15 % răspunsuri citogenetice majore. Aplicarea a 6 cure urmate de IFN sporeşte procentajul la 90 şi respectiv 65 %.

4. **Decitabina** – DAC sau 5-aza-2'-deoxycitidina este un analog de cytidină care exercită un puternic efect hipometilant asupra ADN prin legarea covalentă la ADN metiltransferază. Hipermetilarea ADN la nivelul celulelor tumorale se asociază cu progresia şi agresivitatea acesteia. Hipermetilarea a fost semnalată la peste 50 % din pacienţii cu LMC, astfel încât DAC poate fi util mai ales în fazele tardive ale bolii. Medicamentul este în studiu.

5. **Topotecan**, acid trans-retinoic

F. Strategie terapeutică

a) Faza cronică

Apariţia inhibitorilor de tirozin-kinază, respectiv imatinib, a umbrit importanţa indicaţiilor allo-transplantului de celule stem la pacienţii nou diagnosticaţi. In prezent, transplantul a fost rezervat pacienţilor care nu obţin remisune moleculară sau au rezistenţă la imatinib sau nu răspund la inhibitorii de tirozin-kinază de a doua generaţie. Expunerea anterioară la imatinib nu influenţează răspunsul şi evoluţia post-transplant.

Totuşi, a fost sugerat că pacienţii cu prognostic rezervat (Sokal >1.2) şi cu risc bun la allo-transplant (tineri sub 20 ani cu donator înrudit compatibil...) pot fi transplantaţi în prima intenţie. Nu există un consens clar. În schimb, este consens ca toţi pacienţii care progresează spre faza accelerată-blastică sub inhibitori de tirozin-kinază să beneficieze de transplant.

❖ La pacienţii sub 60 ani se va avea în vedere posibilitatea allografei. La diagnostic se va face tipajul HLA al pacientului şi se va demara procesul de căutare a unui donator potenţial, în primul rând în cadrul fratriei, în cazul lipsei acestuia, căutându-se un donator neînrudit.

- La pacienţii candidaţi la transplant (Indice sokal > 1.2) cu donator compatibil şi care doreşte transplantul, se va proceda la realizarea acestuia.
- La pacienţii care nu sunt candidaţi la transplant, nu au donator compatibil, nu doresc transplantul, se va iniţia terapia cu inhibitori de tirozin-kinază.
- La pacienţii cu prognostic bun (scor Sokal scăzut), se va demara imatinib în doze de 400 mg/zi p.o. sub supraveghere hematologică, citogenetică şi moleculară.

Criteriile standard de răspuns terapeutic optim urmărite la pacienţii cu LMC conform LeukemiaNet:

1. La 3 luni : răspuns hematologic complet (hemogramă normală, cu absenţa semnelor de boală extramedulară), răspuns citogenetic parţial (Ph1+ ≤ 35%), răspuns molecular minor (BCR-ABL ≤ 10%)
2. La 6 luni: răspuns citogenetic complet (Ph1+0%), răspuns molecular parţial (BCR-ABL < 1%)
3. La 12 luni: răspuns molecular major (BCR-ABL ≤0,1%)
4. La 18 luni: răspuns molecular major (BCR-ABL ≤ 0,01%)

Eşecul obţinerii acestor răspunsuri la momentele respective trebuie să antreneze o reevaluare a strategiei. În funcţie de severitatea eşecului, se va proceda la creşterea dozei, schimbarea terapiei sau recurgerea la transplant.

- în caz de răspuns hematologic complet la trei luni, citogenetic complet la 6 luni şi molecular major la 12 şi 18 luni, se continuă tratamentul în funcţie de toleranţa clinică şi hematologică până se observă pierderea răspunsului terapeutic care indică instalarea unei rezistenţe la drog;

- în caz de absenţă a răspunsului hematologic complet la 3 luni sau al celui citogenetic la 6 luni sau în cazul prezenţei unui răspuns citogenetic minor la doi ani, se consideră un eşec şi trebuie orientat spre terapie de a doua linie → noile molecule inhibitoare de tirozin-kinaza (Dasatinib, Nilotinib) ;
- la pacienţii cu eşec şi cu donator în fratrie, se va recurge la allografa medulară. În lipsa unui donator familial, se va recurge la un donator neînrudit (în general sub 40 ani). În lipsa acestuia, se poate recurge la un donator familial parţial compatibil sau la autografa cu celule recoltate la diagnostic.
- la pacienţii cu prognostic rezervat (scor Sokal ridicat) şi cu donator compatibil, se va recurge rapid la grefa medulară allogenică. În aşteptare, se va utiliza, de preferinţă, tratamentul cu Hidroxiuree. Se poate utiliza tratamentul cu interferon care va fi oprit cu cel puţin trei luni înainte de grefă.

❖ La pacienţii peste 60 ani, se acordă prioritate tratamentului cu imatinib ce reprezintă tratamentul de prima linie.

b) Faza de accelerare şi transformare :

❖ grefa medulară este unica şansă, dar răspunsul este mult inferior celui obţinut prin grefele din faza cronică;

❖ pentru faza de accelerare, se poate aplica schema de asociere a hidroxiureei 50 mg/kg/zi şi aracitina 50-200 mg/zi x 6 zile, sau 6-mercaptopurină ;

❖ polichimioterapie în funcţie de tipul de acutizare :

- vincristină + doxorubicină + dexmetazonă - în transformările limfoblastice pot induce o a doua fază cronică la 50% dintre pacienţi ;
- aracitină în doze mari + antraciclină (mitoxantronă) - în transformările mieloblastice pot induce o a doua fază cronică la 20-30% dintre pacienţi ;

❖ utilizarea noilor terapii experimentale, în special Decitabina.

Splenectomia are rare indicaţii în LMC. De obicei, este indicată în complicaţii splenice precum ruptura splenică sau infarctele multiple. Mai poate fi indicată în situaţiile de menţinere a splenomegaliei, în condiţiile unui tratament optim sau suboptim datorită anemiei şi/sau trombopeniei. În aceste ultime situaţii, pot fi, însă, eficace câteva şedinte de iradiere splenică.

Trombocitoza este un factor de prognostic rezervat prin complicaţiile trombotice sau hemoragice pe care le antrenează. Ea poate răspunde la tratamentul de bază utilizat sau poate necesita administrarea de thiotepa 75 mg/m^2, intravenos, la 2 - 3 săptămâni, sau CCNU (Lomustin) în doze de 120 mg (6 cp) o dată la 6 săptămâni.

POLIGLOBULIA PRIMITIVĂ (POLICITEMIA *RUBRA VERA* - PRV)

GENERALITĂŢI

Policitemia vera reprezintă un sindrom mieloproliferativ de etiologie necunoscută, survenit prin implicarea celulei stem pluripotente. Se caracterizează prin hiperproducţie predominantă sau exclusivă de globule roşii, antrenând o poliglobulie. Se asociază adesea şi o producţie crescută de leucocite şi trombocite. Proliferarea are caracter monoclonal. Expansiunea precursorilor eritrocitari este o proprietate intrinsecă a celulelor şi este independentă de sau hipersensibilă la controlul exercitat de factorul de creştere, eritropoietina (EPO). Mecanismul de producere rămâne necunoscut. La unii pacienţi cu eritrocitoză familială au fost implicate mutaţii somatice la nivelul genei receptorului pentru EPO.

EPIDEMIOLOGIE

- Policitemia vera este o boală rară, mai ales la rasa albă, având o prevalenţă de 0,6-3.6 cazuri la o populaţie de 1.000.000 persoane.
- Incidenţa este foarte scazută în Africa şi Asia (2 cazuri la 1 mil. de persoane în Japonia).
- Poate apărea şi ca formă familială.
- Boala poate surveni la orice vârstă, dar este rar semnalată la copii. Mediana vârstei la debut este în jurul celei de 60 ani.
- Există o discretă predominanţă masculină (sex ratio= 1,2).

FIZIOPATOLOGIE

• Poliglobulia primitivă este o boală clonală a celulei suşă hematopoietice.

• Principalele anomalii descrise sunt :

– o hipersensibilitate a progenitorilor hematopoietici la citokine precum EPO, IL3 sau GM-CSF (explicând creşterea lor spontană);

– un defect al apoptozei acestor progenitori asigurându-le o supravieţuire crescută.

• Relativ recent, a fost pusă în evidenţă o mutaţie la nivelul genei codante a tirozin-kinazei JAK2 (V617F) la 95 % din pacienţii cu PRV. Mutaţia vizează o substituţie unică a valinei cu fenilalanina în poziţia 617 din domeniul pseudokinazei genei JAK2. Această mutaţie antrenează o activare spontană a acestei kinaze cu activarea căii de semnalizare JAK-STAT (transductori de semnal şi activatori transcripţionali), implicată în reglarea proliferării şi diferenţierii celulare. Cytokinele şi factorii de creştere (ex EPO) activează această cale prin legarea la receptori de pe suprafaţa celulară. JAK este legată la domeniul citoplasmatic al receptorului şi este activată prin legarea ligandului. JAK activează STAT care dimerizează şi se translocă în nucleu, activând transcripţia genelor ţintă. JAK2 este singura implicată în transmiterea semnalului EPO. Expresia mutaţiei JAK2-V617F conferă o hipersensibilitate sau

independenţă a celulelor hematopoietice la factorii de creştere. Activarea constitutivă a JAK-STAT antrenează eritropoieză excesivă în PV. Mutaţia a fost pusă în evidenţă şi la 50% dintre pacienţii cu trombocitemie esenţială şi la 58% dintre cei cu fibroză medulară primitivă. Această descoperire a trebuit să modifice în scurt timp demersul diagnostic în aceste boli mieloproliferative.

MANIFESTĂRI CLINICE

Debutul bolii este lent, insidios, adesea descoperirea fiind întâmplătoare. Semnele şi simptomele fiind nespecifice, diagnosticul este adesea tardiv în raport cu momentul debutului. Debutul se poate produce şi direct, brutal, prin complicaţii (tromboze, hemoragii...).

Semnele şi simptomele se datorează hipervâscozităţii sanguine (datorate poliglobuliei) şi/sau complicaţiilor din domeniul hemostazei.

➢ ***tegumente şi mucoase*** :

- eritroza facială cu nuanţă roşie purpurie, predominantă la nivelul buzelor, pometilor, nas, urechi, gât, eritroza mucoaselor, predominant conjunctivale ;
- echimoze ;
- tegumente uscate, acnee ;
- prurit intens, rebel, adesea declanşat după băi calde (*prurit aquagenic*) – apare la peste 45 % din pacienţi - manifestare rar semnalată în formele secundare;

➢ ***sistem nervos*** :

- cefalee, vertije, lipotimii ;
- acufene, scotoame, amauroză tranzitorie ;
- paralizii, pareze ;
- accidente vasculare cerebrale cu mono- sau hemiplegii, afazie ;
- tulburări de comportament;

➢ ***splenomegalie*** (75%) cu sau fără hepatomegalie (40%) ;

➢ ***manifestări cardio-vasculare*** - HTA moderată, tromboze arterio-venoase;

➢ ***manifestări digestive*** - ulcer gastric sau duodenal, hemoragii, infarct mezenteric, sdr Budd-Chiari.

Trebuie remarcate câteva semne negative :

- absenţa semnelor de insuficienţă respiratorie ;
- absenţa unei hepatomegalii tumorale ;
- lojele renale sunt libere ;
- absenţa semnelor neurologice de sindrom tumoral de fosă posterioară.

EXAMENE PARACLINICE

➢ ***Hemograma***

- *eritrocitoză* - Hb >18g/dl, Ht > 55%, GR > 6.000.000/mm^3, normocromie, normocitoză;
- *leucocitoză* inconstantă cu GA > 12.000/mm^3, cu fosfatază alcalină leucocitară (FAL) crescută, în formulă predomină neutrofilele ;

• prezența unei *mielemii,* cu creșterea eozinofilelor și bazofilelor, sugerează un sindrom mieloproliferativ ;

• *hiperplachetoză* cu Tr > 400.000/mm^3, uneori până la 1-3 x10^6/mm^3, cu afectare funcțională (scăderea adezivității și agregabilității) și alungirea timpului de sângerare.

Confirmarea poliglobuliei adevărate se face prin ***măsurarea masei eritrocitare totale*** (volumul eritrocitar total).

➢ ***Mielograma*** - arată o măduvă de aspect normal, bogată în megacariocite. Nu este necesară pentru diagnostic.

➢ ***Biopsia medulară***

• Permite evaluarea celularității medulare, analiza cantitativă și calitativă a fiecărei linii mieloide și studiul rețelei reticulinice.

• În 90% din cazuri, biopsia medulară va confirma diagnosticul, arătând o măduvă bogată, hiperplazică (cu celularitate 60-100%), cu dispariția spațiilor grăsoase, hiperplazia celor trei linii, cu predominanța liniilor eritroblastică și megakariocitară, cu semne de dismegakariopoieză, hiperplazie granulocitară, accentuarea tramei de reticulină și absența depozitelor de fier.

• În poliglobulia secundară, măduva are aspect hipercelular, reactiv.

• Examenul repetitiv al măduvei poate fi util pentru a surprinde, precoce, evoluția spre mielofibroză.

➢ ***Biochimic***

• VSH = 0 sau mult scăzut

• creștere a concentrației plasmatice a vitaminei B12 și a transcobalaminei

• hiperuricemie

• hemostază perturbată, cu alungirea timpului de sângerare și scăderea agregabilității plachetare

• pseudo-hiperpotasemie datorată eliberării de potasiu din trombocite în cursul coagulării *in vitro* la pacienții cu trombocitoză

• feritina serică scăzută sau normală

Pentru eliminarea sau diferențierea de o poliglobulie secundară trebuie realizate câteva investigații suplimentare :

• ***gazele în sângele arterial,*** cu o presiune a oxigenului (PaO2) de peste 65 mmHg și o saturație în oxigen (SaO2) de peste 92%

• ***determinarea afinității hemoglobinei pentru oxigen*** (**P_{50}** – presiunea oxigenului la care hemoglobina devine saturată 50%) – la pacienții cu hemoglobinopatii cu afinitate crescută pentru oxigen, P_{50} este scăzut (mai puțin de 20 mmHg față de un normal de 27,5 mmHg). Este scăzut și în carboxihemoglobinemie, dar este normal în PV;

• ***dozarea fosfatazei alcaline leucocitare (FAL)*** – FAL este o enzimă prezentă în granulațiile secundare ale neutrofilelor. Este crescută în peste 70% din cazurile de PV, permițând diferențierea de o LMC ;

• ***echografie +/- scanner hepatic*** – pentru depistarea unui eventual hemangiom sau a unei tumori hepatice ;

• ***ecografie renală, urografie***– pentru depistarea unei eventuale tumori renale ;

• ***scanner cerebral (eventual)*** – pentru evidențierea unei eventuale tumori cerebeloase ;

• ***dozajul eritropoietinei serice și urinare*** – aceasta este crescută la cei cu forme secundare și normală sau scazută la cei cu formă primitivă;

• ***culturi celulare de progenitori eritroblastici*** *(BFU-E)* - la pacienții cu poliglobulie primitivă, progenitorii cresc în cultură fără a necesita adăugarea de eritropoietină în mediul de cultură (proliferare autonomă).

➢ ***Citogenetica*** – examenul citogenetic al pacienților cu PV evidențiază anomalii cromozomiale clonale la peste 30% din pacienții netratați și la peste 50% din cei tratați. Anomaliile pot fi prezente la debut sau pot apărea în evoluție. Anomaliile cele mai frecvent semnalate sunt delețiile brațului lung al crs 5(5q-), ale brațului lung al crs 20(20q-), trisomia 8, trisomia 9. Cromosomul Philadelphia nu este prezent.

➢ ***Biologie moleculară*** – căutarea mutației JAK2 tipul V617F în 95% din cazuri și câteva cu mutație în exonul 12.

DIAGNOSTICUL DIFERENȚIAL

Poliglobuliile false

• Sunt datorate creșterii hematocritului și/sau numărului de hematii fără o creștere a masei globulare totale.

• Pseudo-poliglobulii în talassemiile minore :

– numărul de eritrocite crescut

– microcitoză și hipocromie

– diagnostic : electroforeza Hb în beta-talassemiile heterozigote

– adevăratul diagnostic diferențial este o poliglobulie adevarată complicată cu hemoragii cronice antrenând microcitoză prin carență marțială

• Hemoconcentrația :

– proteinemie și albuminemie crescute

Poliglobuliile secundare

• Se datorează unui exces în producția de EPO fie adaptată (răspuns fiziologic la o hipoxie tisulară), fie neadaptată.

a) Poliglobulii secundare unei hipersecreții adaptate de EPO

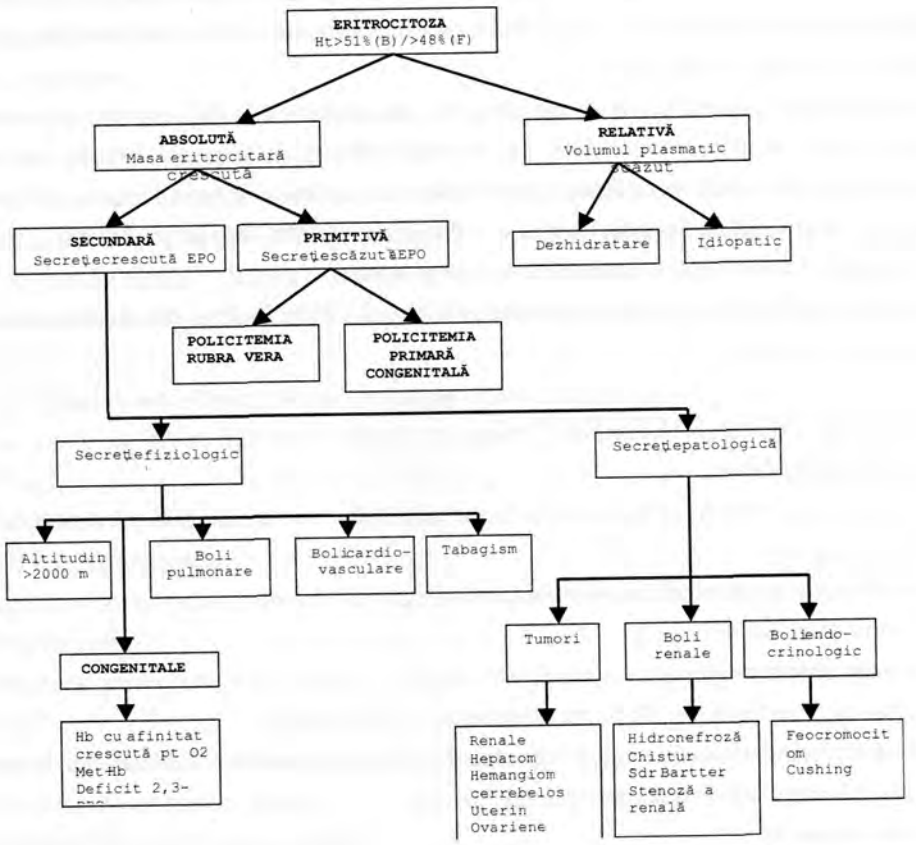
– Insuficiență respiratorie cronică (SaO2<92 %)

  * tabagism
  * BPOC
  * fibroze pulmonare, pneumopatii restrictive
  * sindrom Pickwick cu apnee de somn

– Tabagism

– Cardiopatii congenitale : shunt dreapta-stânga (și alte shunturi arterio-venoase)

– Sejur prelungit la altitudine (peste 2000 m)
– Intoxicaţie cu monoxid de carbon (HbCO > 5 %)
– Afinitate crescută a Hb pentru oxigen :
* Hemoglobine anormale (P50 crescută)
* Deficit în 2,3-DPG (2,3-DPG diminuează fiziologic afinitatea Hb pentru O2)
* Methemoglobinemie congenitală sau secundară



b) Poliglobulii secundare unei secreţii neadaptate de EPO

– Patologii tumorale :
* carcinom hepatocelular (post-ciroză)
* cancer renal, polikistoză renală
* hemangioblastom cerebelos
* cancer ovarian, kist ovarian
* fibrom uterin
* alte carcinoame : stomac, bronşic, prostatic

– Patologie renală netumorală :
* stenoza arterei renale
* hidronefroză

– Alte cauze mai rare :
* endocrinopatii : Sdr Cushing, feocromocitom, adenom Conn
* mixom auricular
* Administrarea de androgeni.

DIAGNOSTICUL POZITIV

Se derulează în trei etape :

1. Diagnostic de poliglobulie adevarată

• Diagnosticul se bazează pe măsurarea izotopică a volumului globular total (VGT)
– reinjectarea de hematii autologe marcate cu 51Cr
– crescut dacă >125% faţă de media teoretică (funcţie de vârstă, greutate, înălţime)
– anterior > 36 ml/kg la bărbat şi > 32 ml/kg la femeie
• Acest examen este adesea cuplat cu măsurarea izotopică a volumului plasmatic :
– injectarea de albumină marcată
– permite detectarea unei eventuale hemoconcentraţii, cauză de creştere a Ht
• Măsurarea VGT este considerată inutilă dacă creşterea Ht este majoră :
– Ht > 60 %la bărbaţi
– Ht > 56% la femei

2. Eliminarea cauzelor de poliglobulie secundară

• se referă doar la cauzele principale:
– examen clinic :
* insuficienţă respiratorie : polipnee, cianoză, hipocratism digital
* auscultaţie : suflu cardiac, suflu arterial renal
* sindrom tumoral abdominal (hepatic, renal, ovarian, uterin)
* sindrom cerebelos (hemangioblastome)
– radiografie toracică
– echografie abdominală (hepatică, renală şi pelvină la femeie)
– gazometrie arterială cu măsurare HbCO :
* o etiologie respiratorie este eliminată dacă $SaO2 \geq 92\%$

3. Confirmarea sindromului mieloproliferativ

• splenomegalie clinică, echografică sau izotopică
• creşterea celorlalte două linii sanguine:
– leucocitoză cu neutrofilie, un grad de mielemie $> 10.000/mm^3$
– trombocitoză$> 400.000/mm^3$
• în caz de dubiu diagnostic :
– dozarea nivelului seric al EPO - dacă este scăzut, este în favoarea unei poliglobulii primitive, dar nivelul poate fi şi normal. Realizarea sistematică depinde de dotarea laboratorului;
– căutarea creşterii spontane a progenitorilor eritrocitari în culturi celulare (BFU-E, CFU-E).
• biopsie osteo-medulară :

– non-sistematică
– măduvă bogată cu hiperplazia celor 3 linii, predominant pe cea eritrocitară
– dispariţia spaţiilor grăsoase
– absenţa mielofibrozei

• examene ce nu sunt solicitate în practica curentă :

– cariotip medular (argument de clonalitate) : puţin rentabil (în jur de 30% anomalii)
– dozarea fosfatazei alcaline leucocitare şi a nivelului vitaminei B12 – abandonată, deşi ambele valori sunt crescute

Tabel 22

CRITERII MAJORE
1. Hb > 18.5 g/dl la bărbaţi, 16.5 g/dl la femei sau alt argument de creşterea volumului eritrocitar total
2. Prezenta mutaţiei JAK2F617V sau altă mutaţie similară precum mutaţia exonului 12 al JAK
CRITERII MINORE
1. Biopsia medulară evidenţiind hipercelularitate cu proliferare crescută pe cele trei linii (panmieloză)
2. Nivelul eritropoietinei (EPO) scăzut sub nivelul normal
3. Formarea spontană de colonii eritrocitare in vitro

Diagnosticul necesită prezenţa ambelor criteria majore cu cel puţin unul minor sau al primului criteriu major cu două criteria minore

* Hb > 17 g/dl la bărbaţi sau peste 15 g/dl la famei dacă se asociază cu o creştere persistent de minim 2 g/dl faţă de valorile de bază

Semnele şi simptomele sunt multiple, dar nepatognomonice, astfel încât, în practică, diagnosticul se face pe baza asocierii unor criterii stabilite de OMS.

EVOLUŢIE ŞI COMPLICAŢII

În absenţa tratamentului, decesul survine, în medie, după 18 luni de evoluţie. Decesul survine, în majoritatea cazurilor, din cauză vasculară. Sub tratament, evoluţia se poate prelungi până la 12-14 ani.

❖ **Complicaţii vasculare**

• **tromboze şi tromboembolism** – survin la 15 – 60% din cazuri şi reprezintă principala cauză de deces (la 10 – 40% dintre ei). Sunt favorizate de vâscozitatea sanguină (există o corelaţie între valoarea hematocritului şi riscul trombotic), ***hiperleucocitoza*** şi hiperplachetoza. Trombozele pot fi venoase sau arteriale. Mai frecvent survin : tromboza cerebrală, coronariană, pulmonară, mezenterică, trombozele arteriale ale membrelor, emboliile pulmonare. Factorii de risc pentru tromboze sunt reprezentaţi de vârsta de peste 70 de ani, antecedentele trombotice, bolile vasculare, flebotomiile repetate. Astfel, la pacienţii asimptomatici, asociind factorii de risc vascular, şi sistematic la cei peste 70 ani, trebuie explorate vasele principale pentru a preveni accidentele trombotice.

• **hemoragii** – survin la 20 – 35% din cazuri şi sunt cauza de deces la 10 – 25% din pacienţi. Sunt favorizate de trombopatie şi de dilataţia vasculară antrenată de poliglobulie. Riscul de sângerare este proporţional cu gradul trombocitozei, alterarea funcţiei plachetare, timpul de sângerare. Tratamentul antiagregant plachetar la pacienţii cu trombocitoză poate creşte riscul hemoragic.

• factori de risc : vârsta de peste 70 ani, antecedentele vasculare, tratamentul prin sângerari.

❖ **Complicaţii hematologice :**

• evoluţia spre **mielofibroză cu metaplazie mieloidă hepato-splenică.** Este semnalată la 3 – 10% din pacienţi. Survine după 8-10 ani de evoluţie. Apariţia este mai precoce la cei trataţi de fond, prin sângerări. Se manifestă prin creşterea volumului splinei, evoluţia spre anemie cu eritrocite deformate (hematii în lacrimă - dacriocite), mielemie şi eritroblaşti în sângele periferic. La biopsia medulară, se evidenţiază o fibroză colagenică intensă, mutilantă. Ulterior, poate evolua spre leucemie acută. Durata mediană de supravieţuire după instalare este de 2 ani.

• transformarea în **leucemie acută**. Survine în 15-20% din cazuri, fie direct, fie precedat de osteomielofibroză (50% din cazuri). Transformarea este favorizată de tratamentul chimioterapic (fosfor radioactiv, busulfan, clorambucil). În majoritatea cazurilor, se transformă în leucemii mieloblastice, mai rar în leucemii limfoblastice, mielodisplazii sau leucemie mielo-monocitară cronică.

• **alte neoplazii** – pacienţii trataţi cu Clorambucil sau fosfor radioactiv au o incidenţă crescută a cancerelor de piele şi tumorilor gastrointestinale

❖ **ulcerul peptic** – frecvenţa bolii ulceroase este de 3 – 5 ori mai mare decât la populaţia generală

❖ **sindromul Budd-Chiari** – apare la pacienţii cu boli mieloproliferative, mai frecvent la sexul feminin. Se datorează trombozelor cu obstrucţie venoasă în teritoriul venei cave inferioare şi al venei porte, antrenând ascită, hepatosplenomegalie, dureri abdominale, hemoragii digestive superioare. Aproape 20% dintre pacienţi pot fi asimptomatici. Diagnosticul se stabileşte prin examene echografice, CT, RMN şi/sau angiografie. Rezolvarea poate fi chirurgicală - şunturi sau transplant hepatic.

TRATAMENT

Evoluţia bolii, în absenţa tratamentului, este spre deces într-un interval relativ scurt. Astfel, 50% dintre pacienţii netrataţi, decedează în primele 18 luni de la primul simptom. Principala cauză este tromboza. Dintre pacienţii trataţi exclusiv prin flebotomii, 50% decedează în primii 3,5 ani, iar dintre cei trataţi cu citostatice vor deceda în intervalul între 7 şi 13 ani.

Riscurile pe termen lung ale PV includ transformarea în leucemie acută şi osteomielofibroză, care survin la mai puţin de 5% şi respectiv 10% dintre pacienţi la 10 ani de evoluţie. Modalităţile terapeutice utilizate în mod curent nu modifică această evoluţie. Scopul tratamentului în *policitemia vera* este de a controla numărul de celule circulante, de a minimaliza riscul complicaţiilor legate de numărul crescut de celule, respectiv evenimentele trombotice arteriale şi venoase (care se cifrează la 20%), de a diminua organomegalia simptomatică, de a controla pruritul. Tratamentul mielosupresor pare cel mai efectiv.

Pacienţii pot fi stratificaţi potrivit riscului lor de a dezvolta tromboze potrivit vârstei şi antecedentelor trombotice. Pacienţii de peste 60 ani cu antecedente trombotice au riscul cel mai înalt, în timp ce pacienţii sub 60 ani şi fără antecedente au riscul cel mai scăzut.

Criterii de risc la pacienţii cu PRV :

- antecedente trombotice
- vârsta peste 60 ani
- trombocitoza până la 1.500.000/mmc (peste reprezintă factor de risc pentru hemoragii)
- leucocitoza – 20.000 – 25.000/mmc
- splenomegalia simptomatică

Toţi pacienţii cu PV trebuie să facă sângerari pentru a menţine un Ht sub 45% şi trebuie să ia aspirină zilnic. În plus, dacă pacientul are risc trombotic crescut, se va asocia terapia citoreductoare. Hydroxyureea se va iniţia la o doză de 500 mg x 2/zi. Dozele vor fi modulate în funcţie de hemogramă. La pacienţii refractari sau intoleranţi la Hydroxyuree, se va utiliza Interferon ca alternativă.

a) Metode terapeutice :

1. Flebotomii (sângerări)

- permit reducerea rapidă a hipervolemiei şi hipervâscozităţii sanguine, constituind astfel tratamentul de urgenţă al situaţiilor ameninţătoare;
- induc hiposideremie cu diminuarea secundară a sintezei de hemoglobină şi, deci, a masei globulare totale;
- avantaje : uşor de practicat, nu necesită tehnică sau instrumentar sofisticat, putându-se utiliza rapid şi oriunde, nu favorizează evoluţia spre leucemii acute;
- dezavantaje : necesită deplasări repetate din partea bolnavului, nu controlează leucocitoza şi nici hiperplachetoza, hiposideremia secundară determină astenie şi stimularea formării de trombocite (cu creşterea riscului trombotic), favorizează evoluţia spre osteomielofibroză;
- tratamentul de atac se face cu sângerari de 300-400 ml la două zile interval, pâna la normalizarea hematocritului (**Ht<48%**), apoi ritmul este dictat de valoarea Ht (în general la 2-3 luni) ;
- la persoanele în vârstă sau la cei cu afecţiuni vasculare, la care sângerarea ar putea antrena un dezechilibru volemic, după sângerare se perfuzează un volum corespunzător de plasmă sau o soluţie macromoleculară (Dextran) pentru reechilibrare.

2. Fosfor radioactiv (P32)

- după injectare, el se concentrează în ţesutul hematopoietic, ficat, splină şi acţionează local. Se încorporează în celulele care se divid activ, iar pe unele dintre ele le iradiază letal ;
- efect întârziat asupra poliglobuliei : la 1 - 2 luni, eficacitate prelungită pe mai mulţi ani;
- se administrează 0,1 mCi/kg sau 2-3 mCi/m^2 în doză unică. Dacă răspunsul este insuficient, la trei luni, se mai poate administra o doză de 1 - 4 mCi;
- este un produs uşor de manevrat, cu toleranţă bună ce nu necesită o supraveghere strictă, dar favorizeaza evoluţia spre o leucemie acută la 15% din cei trataţi;
- în prezent, indicaţiile acestui tip de tratament rămân cazurile de :

- pacienţi la care hidroxiureea este rău tolerată sau ineficientă
- pacienţi care refuză supravegherea strictă sau să urmeze un tratament în mod regulat
- pacienţi în vârstă cu factori de risc trombotic.

3. Chimioterapie

Hydroxyuree:

- antimetabolit care inhibă proliferarea celulară prin scăderea sintezei de ADN datorită inhibiţiei ribonucleotid difosfat reductazei;
- drogul mielosupresiv cel mai folosit la pacienţii cu *policitemia vera*;
- se administrează în doze de 1-2 g/zi sau 14-20 mg/kg/zi sub contol periodic al hemogramei;
- este eficace pe toate cele trei linii, mai ales pe trombocite, şi este indicată în cazurile cu trombocitoză.

Pipobroman (Vericyte)

- agent alkilant, derivat de piperazină, eficace în tratamentul poliglobuliei ;
- se administrează în doze de 1 mg/kg/zi, apoi de întreţinere cu 0,1-0,2 mg/kg/zi;
- ca şi hydroxyureea, determină tulburări digestive, leuco şi trombopenie.

Anagrelid

- derivat de quinazolină, creat iniţial ca inhibitor al funcţiei plachetare;
- administrat în doze de 0,5-1 mg x 4/zi, per os, antrenează scăderea trombocitelor sub $600.000/mm^3$ în 2-4 săptămâni la peste 90% din pacienţi;
- nu afectează linia granulocitară;
- ca efecte secundare, se semnalează edeme, vasodilataţie, insuficienţă renală, insuficienţă cardiacă manifestă.

4. Interferon

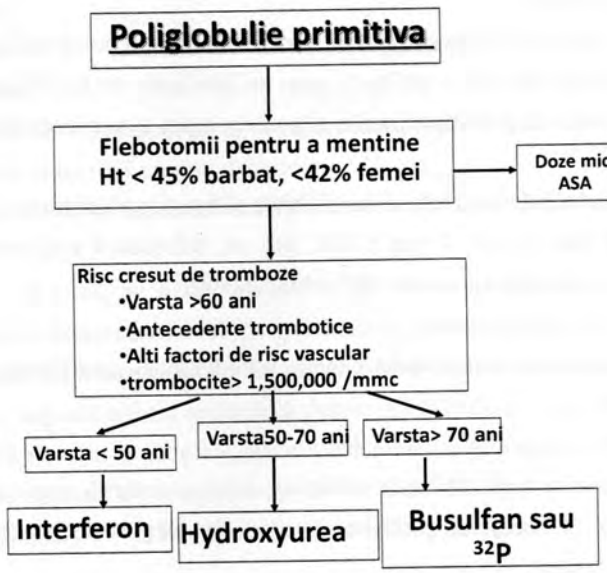
- este utilizat datorită activităţii sale mielosupresive şi datorită capacităţii de a antagoniza acţiunea factorului de creştere plachetar produs de megakariocite cu rol de a stimula proliferarea fibroblaştilor;
- se recomandă iniţierea unui tratament cu doze de 3MUI x 3/săptămână pentru a scădea dozele din al doilea an de utilizare (1-2MUI x 3/săptămână). Noi studii sunt necesare pentru aprecierea eficacităţii pe termen lung. Pentru efectele secundare, vezi capitolul LMC. Interferonul pegylat pare a fi mai bine tolerat, cu administrare săptămânală. Reprezintă tratamentul preferat la gravide şi la unii pacienţi sub 40 ani.

5. Tratamente noi – inhibitorii de JAK2 kinază, Ruxolitinib fiind primul reprezentant. Medicament cu administrare orală propus în mielofibroză. Studiile au arătat o scădere a Ht < 45% la 97% pacienţi, cu scăderea splinei peste 50% la 80% dintre pacienţi. Studii sunt în curs.

b) Tratament complementar:

- în caz de prurit, se încearcă, cu rezultate variabile, ciproheptadina, colestiramina, cimetidina 400 mg/zi, paroxetin 20 mg/zi;

- în caz de deficit marţial, se recomandă tratamentul cu fier. S-a observat faptul că eritrocitele microcitare posedă o vâscozitate intrinsecă mai mare la oricare nivel al hematocritului, putând favoriza complicaţiile. Astfel, se recomandă evitarea microcitozelor severe prin sângerari multiple. Atunci când CHEM este sub 22 pg, se recomandă aportul medicamentos de fier, prudent, sub monitorizarea Hb şi Ht ;
- în caz de hiperuricemie sau crize de gută : allopurinol : 200-300 mg/zi ;
- în caz de splenomegalie masivă, se poate încerca administrarea de androgeni sau citostatice. Hydreea sau IFN pot antrena diminuarea splinei. Iradierea splenică în doze mici poate fi eficace. S-a încercat splenectomia, dar s-a observat, adesea, o evoluţie spre hepatomegalie compensatorie progresivă şi chiar transformarea în leucemie acută;
- în caz de eritromelalgie prin tulburări microvasculare, Aspirin 75-100 mg/zi este eficace.



Strategie terapeutică :

I. Pacienţi sub 50 de ani fără antecedente trombotice şi fără trombocitoză severă (>1.000.000/mmc) → sângerări (doar)

- iniţial 450-500 ml la două zile până când Ht < 45% (M), 42% (F);
- pacienţii mai în vârstă sau cu boală cardiovasculară asociată vor face sângerări mai reduse cantitativ de 200-300 ml de două ori/săptămână sau 100-150 ml la două zile până când Ht<45%;
- ulterior, Ht trebuie menţinut între 42-46%;
- după flebotomie, se vor perfuza fluide pentru a se menţine izovolemia.

II. Pacienţi de peste 70 ani sau cu antecedente trombotice sau trombocitoză severă (de peste 1.000.000/mmc) – terapie mielosupresoare :

- Hydroxyureea 15-30mg/kg.

III. Pacienţi cu vârste între 50-70 ani, fără antecedente trombotice şi fără trombocitoză severă (peste 1.000.000/mmc) - individualizarea tratamentului I sau II.

TROMBOCITEMIA ESENŢIALĂ (TE)

GENERALITĂŢI

- Trombocitemia esenţială este o proliferare monoclonală a celulei susă hematopoietice, caracterizată printr-o proliferare anormală a megakariocitelor, cu menţinerea crescută a numărului de trombocite în sângele periferic, adesea de peste 600.000/mm^3.
- Boala aparţine grupului de boli mieloproliferative.
- Manifestările clinice majore sunt diateza hemoragică şi/sau tromboembolică.

EPIDEMIOLOGIE

- Incidenţa raportată a TE este de până la 3 pacienţi/100.000 persoane anual.
- Incidenţa pe sexe este similară. Unele studii au raportat o oarecare preponderenţă feminină (*sex ratio* = 1 – 2/1).
- Mediana vârstei la diagnostic este situată în jurul a 60 ani. Sub 20% din pacienţi au sub 40 ani. Rar, a fost semnalată la tineri şi doar excepţional la copii.
- Au fost semnalate cazuri de trombocitoză familială - două tipuri cu transmitere autozomal dominantă.
- Au fost raportate şi câteva cazuri pediatrice, dintre care 30% prezintă complicaţii trombotice şi 50% splenomegalie. Doar 20% prezintă mutaţia JAK2.
- Pacienţii cu TE au o rată de supravieţuire la 10 ani de 64-80%, aproape de cea din populaţia generală la vârsta corespunzătoare.
- Decesul survine prin complicaţii trombotice.
- Transformarea în LA survine la 0.6-5% din pacienţi.

FIZIOPATOLOGIE

- Supravieţuirea plachetară în TE este normală.
- Megakariocitele medulare cresc producţia trombocitară antrenând trombocitoză. Cauza acestei producţii crescute rămâne neclară, totuşi se poate pune pe seama :
    - unei producţii autonome
    - unei creşteri a sensibilităţii la citochine (ex IL-3), scăderii inhibiţiei de către factorii inhibitori ai producţiei trombocitare (ex TGF-beta) sau
    - unor defecte în celulele accesorii din micromediul medular.
- Precursorii megakariocitari medulari de la pacienţii cu TE formează colonii în absenţa trombopoietinei (Tpo) exogene.
- Pacienţii cu TE au un nivel normal sau chiar scăzut al Tpo plasmatice.
- Mutaţiile prezente în gena codantă pentru tirozin-kinaza *JAK2* activează posibil receptorul pentru trombopoietină în mod permanent, dar acest fenomen poate apărea chiar înainte ca mutaţia să devină detectabilă ; mutaţia *JAK2* este detectată numai la 50% dintre pacienţi.

- Mutaţii în *MPL* (*myeloproliferative leukemia virus oncogene*), gena care codează receptorul pentru Tpo, au fost semnalate la un număr mic de cazuri (aproximativ 4%) de TE. Modificări ale aminoacizilor din poziţia 505 sau 515 conduc la sinteza unui receptor pentru trombopoietină activat permanent, antrenând o creştere anormală a producţiei de megakariocite şi o creştere a numărului de trombocite.
- Recent, la aproximativ 65-85% din cazurile de TE fără mutaţii în *JAK2* şi *MPL* au fost detectate mutaţii somatice în gena calreticulinei (*CALR*) în sângele periferic. Pacienţii cu mutaţii în *CALR* au un risc mai scăzut de tromboze şi o supravieţuire superioară celor cu mutaţii în *JAK2*.
- Mecanismul prin care trombocitemia produce hemoragii sau tromboze nu este bine caracterizat. Au fost descrise câteva defecte precum scăderea agregabilităţii trombocitare sau hiperagregabilitatea, o concentrare intracelulară de diferite chimicale. A fost semnalată şi o scădere a activităţii de cofactor de ristocetină a factorului von Willebrand şi multimeri ai acestuia cu greutate moleculară mare. Unii pacienţi asociază deficite ATIII, proteina C sau S.

MANIFESTĂRI CLINICE

Aproximativ 25–35% din cazuri sunt asimptomatice. Boala este uneori descoperită în mod fortuit sau cu ocazia explorării unei anemii hipocrome, feriprive. Cel mai adesea, însă, diagnosticul este ocazionat de apariţia unor simptome vasomotorii sau a unor manifestări hemoragice sau trombotice.

➢ **Simptome neurologice**

- Cefaleea - este simptomul cel mai frecvent.
- Ocluzii ale microvascularizaţiei de la degetele de la picioare antrenează dureri ale degetelor, gangrene sau eritromelalgie (caracterizată prin dureri sub forma de arsură şi edem congestiv ale extremităţilor). Durerea creşte cu expunerea la căldură şi se calmează la rece → o singură doză de aspirină poate asigura calmarea pe mai multe zile.
- Pacienţii acuză şi parestezii, atacuri ischemice tranzitorii.
- Alte manifestări neurologice intermitente sunt semnalate:
    - nelinişte, dizartrie, disfonie, vertije, ameţeli, migrene, sincope, scotoame, crize lipotimice.

➢ **Manifestările hemoragice**

- apar la peste 30% dintre pacienţi, încă de la diagnostic
- pot fi provocate de traumatisme minore sau survin în mod spontan
- pe primul plan se află hemoragiile cutaneo-mucoase cu epistaxis, gingivoragii, hematurii, metroragii, echimoze sau hematoame subcutanate
- relativ frecvent, se produc hemoragii digestive - gastrice sau intestinale, fără leziune subjacentă evidentă, antrenând o anemie hipocromă, feriprivă
- sunt mai frecvente la pacienţii cu un număr de trombocite ce depăşeşte 1.500.000/mm^3.
-

➢ **Manifestări trombotice**

- sunt prezente în momentul diagnosticului la 20-45% dintre pacienţi
- reprezintă o manifestare predominantă a bolii şi sunt mult mai frecvente decât manifestările hemoragice
- sunt mai frecvente la persoanele în vârstă comparativ cu cele tinere, pentru aceeaşi cifră plachetară.

• ***Trombozele arteriale*** (prezente la 30% din pacienţi, la diagnostic) - la nivelul arterelor mici, cu ocluzii manifestate prin ischemia degetelor, mergând până la necroze sau accidente ischemice cerebrale tranzitorii sau constituite. Trombozele pot atinge şi trunchiuri arteriale mai mari, precum arterele axilare, carotidiene sau ale membrelor inferioare (claudicaţie intermitentă). Tromboza arterelor coronariene determină apariţia crizelor anginoase până la infarct miocardic.

• ***Trombozele venoase*** (prezente la 6% din pacienţi, la diagnostic) interesează atât venele superficiale, cât şi cele profunde. Ele implică predominant venele membrelor, dar pot avea şi localizări mai puţin obişnuite (care pot atrage atenţia asupra unei posibile patologii mieloproliferative), precum vena splenică, vena portă, venele hepatice, mezenterice (dureri abdominale), renale. Avorturile spontane se asociază relativ frecvent cu trombocitemia esenţială. Cauza o reprezintă insuficienţa placentară datorată trombozei vaselor placentare.

• ***Eritromelalgia*** – reprezintă un semn aproape patognomonic, dar survine şi la pacienţii cu poliglobulie primitivă care asociază trombocitoză importantă. Debutează la extremitatea distală a membrelor inferioare prin acroparestezii urmate de dureri şi senzaţie de arsură la nivelul picioarelor care devin congestive. Fenomenele sunt uneori extrem de dureroase. Pot fi declanşate de efort fizic susţinut sau de căldură.

➢ Unii din pacienţi (35–40%) pot prezenta **manifestări vasomotorii** ca cefalee, ameţeli, sincope, dureri toracice atipice, parestezii ale extremităţilor, tulburări de vedere, *livedo reticularis.*

➢ **Splenomegalia** este prezentă la 80% din pacienţi. La 50% din pacienţi, examenul clinic relevă o splenomegalie moderată, ce nu depăşeste 4 cm sub rebordul costal. La restul, splenomegalia este evidenţiabilă doar echografic. La unii dintre pacienţi este prezentă o atrofie splenică datorată unor infarcte repetate.

➢ **Hepatomegalia** este prezentă doar la 15% dintre pacienţi.

➢ **Hipertensiunea** este depistată la aproximativ 30% din cazuri.

INVESTIGAŢII PARACLINICE

➢ **Hemograma** evidenţiază :

▪ ***trombocitoza*** cu un număr de trombocite constant peste 400.000/mm^3, dar adesea depăşind 1.000.000/mm^3, atingând 2-5 milioane şi chiar 10 milioane/mm^3. Pe frotiu se evidenţiază o intensă anizocitoză şi anizocromie trombocitară, cu trombocite cu talie mare, cu anomalii de formă şi structură, cu tendinţa de agregare în grămezi. Uneori se evidenţiază micromegakariocite şi fragmente megakariocitare în sângele periferic.

▪ ***anemia*** este adesea prezentă, de tip hipocrom, feripriv, prin hemoragii repetate. La 30% din cazuri se evidenţiază o creştere a numărului de eritrocite. În caz de atrofie splenică, se evidenţiază corpi Howell-Jolly şi hematii în ţintă.

▪ ***hiperleucocitoza*** moderată de 15.000–40.000/mm^3 este adesea semnalată. În formulă se evidenţiază o neutrofilie cu deviere la stânga, cu prezenţa de metamielocite nesegmentate. Adesea sunt prezente o eozinofilie discretă şi o bazofilie.

➢ Examenul **măduvei osoase** (mielogramă şi biopsie medulară) evidenţiază o măduvă normoplazică sau, adesea, hiperplazică, uneori cu o discretă fibroză reticulinică. La nivel medular, există o hiperplazie marcată a populaţiei megakariocitare cu aspect «distrofic», talie mare, segmentare nucleară (semn de hiperploidie), cu dispunerea în grămezi sau pânze. Se remarcă şi o hiperplazie a precursorilor leucocitari şi eritrocitari. Depozitele de fier din măduvă sunt reduse, chiar absente, datorită sângerărilor asociate bolii.

➢ Examenul **cariotipului medular** nu evidenţiază, în general, anomalii. Ocazional, la mai puţin de 5% pacienţi, se evidenţiază anomalii de tipul 20q- sau 21q-. Cromozomul Philadelphia este absent.

➢ **Biologie moleculară** : mutaţia *JAK2-V617F* este prezentă la 50% din pacienţii cu TE. Pacienţii cu mutaţia *V617F* prezintă multiple trăsături asemănătoare cu PRV, cu niveluri mai crescute ale Hb, PN, cu eritropoieza şi granulopoieza medulare crescute, cu o incidenţă mai mare a trombozelor venoase şi o incidenţă crescută a transformării în policitemie. La 5% din pacienţi, se găsesc mutaţii în *MPL,* în timp ce la alţi 15-25% se găsesc mutaţii în gena *CALR.*

➢ Studiul **funcţiilor plachetare** evidenţiază anomalii: ***hipoadezivitate*** şi ***hipoagregabilitate*** plachetară, ceea ce explică apariţia fenomenelor hemoragice. Pentru pacienţii care asociază manifestări trombotice, s-a pus în evidenţă o hiperactivitate trombocitară cu o creştere a interacţiunii trombocit-endoteliu, ca şi creşteri ale concentraţiilor serice ale factorului 4 trombocitar şi ale beta-trombomodulinii.

Alte analize:

- creşterea vitaminei B12 serice
- hiperuricemie şi hiperlizozemie
- creşterea nivelului seric al fosfatazei acide, LDH, fosforului, mucopolizaharidelor.

DIAGNOSTICUL POZITIV

➢ Diagnosticul pozitiv al trombocitemiei esenţiale impune, în primul rând, eliminarea altor boli mieloproliferative asociate cu grade variabile de trombocitoză şi a tuturor situaţiilor asociate cu o trombocitoză reactivă (anemie feriprivă, asplenism funcţional sau chirurgical, metastaze, traumatisme, hemolize, procese infecţioase şi inflamatorii…).

➢ În absenţa unor cauze evidente de trombocitoză reactivă, se vor determina factorii de fază acută : proteina C reactivă, fibrinogenul, VSH. Creşterea lor ar putea fi semnul unui proces inflamator ocult, cauza unei trombocitoze reactive.

Criterii de diagnostic pozitiv :

⇨ trombocite > 600 000/mm^3 persistent

⇨ absenţa oricărui argument în favoarea unei cauze de trombocitoză reactivă

⇨ masa eritrocitară totală normală sau Ht < 40%

⇨ depozite medulare de fier normale sau feritină serică normală sau VEM normal

⇨ absenţa cromozomului Philadelphia sau a genei BCR-ABL

⇨ absenţa unei fibroze medulare semnificative (<33% din măduvă în absenţa splenomegaliei şi a leucoeritroblastozei).

⇨ absenţa de anomalii morfologice sau citogenetice de SMD

***Tabel* 23**

CRITERII OMS DE DIAGNOSTIC TE

CRITERII
1. Trombocitoză persistent peste 450.000/mm^3
2. Examenul biopsiei osteomedulare evidenţiind proliferare predominant megakariocitară cu creşterea numărului de megakariocite mari, mature; seriile eritrocitară şi granulocitară fără creştere sau deviere la stânga semnificative
3. Fără întrunirea criteriilor OMS pentru PRV*, FMP**, LGC***, SMD**** sau alte neoplazii mieloide
4. Demonstrarea prezenţei mutaţiei Jak2V617F sau alt marker clonal sau, în absenţa unui marker clonal, absenţa de argument pentru o trombocitoză reactivă+
Dignosticul impune întrunirea celor 4 criterii

* Eşecul terapiei marţiale de a creşte nivelul Hb la valoarea de PRV in prezenţa unei feritinemii scăzute.

** Absenţa unei fibroze reticulinice semnificative sau colagenice. Absenţa din sânge a leucoeritroblastozei sau o măduva intens hipercelulară cu megakariocite tipice pentru FMP – mici-mari curaport nucleo-citoplasmatic aberant şi nuclei hipercromi, voluminoşi, neregulaţi, grupate în grămezi dense.

*** Absenţa BCR-ABL

**** Absenţa diseritropoiezei şi disgranulopoiezei

\+ Cauze de trombocitoză reactivă – deficit marţial, splenectomie, intervenţii chirurgicale, infecţii, inflamaţii, colagenoze, neoplazii metastazate. Totuşi, prezenţa unei condiţii associate cu o trombocitoză reactivă nu exclude o TE în caz de întunirea primelor trei criteria.

⇨ Criterii suplimentare

- splenomegalie
- formarea spontană de colonii megakariocitare *in vitro*.

***Tabel* 24**

CAUZELE TROMBOCITOZELOR
Trombocitoza fiziologică - eforturi fizice, naştere, administrarea de epinefrină
Boli ale sistemului hematopoietic
➢ sindroame mieloproliferative - trombocitemia, *policitemia vera*, leucemia mieloidă cronică, osteomielofibroză
➢ regenerare sanguină accelerată - posthemoragic, în anemii hemolitice
➢ efect de rebound - fază recuperatorie dupa trombocitopenie sau inhibiţie medulară
➢ diverse - anemia feriprivă, alte anemii cronice, mielom multiplu
Stări de asplenism - postsplenectomie, agenie splenică, atrofie splenică, tromboză de venă splenică
Boli inflamatorii şi infecţioase
➢ infecţii acute
➢ infecţii cronice - osteomielita, tuberculoza
➢ colita ulcerativă, sprue, enterita regională
➢ periarterita nodoasă, artrita reumatoidă, reumaismul articular acut
➢ sarcoidoza, ciroza hepatică, granulomatoza Wegener
Neoplasme* - carcinoame, boala Hodgkin, limfoame
Diverse - după traumatisme şi intervenţii chirurgicale, osteoporoză, sindrom nefrotic, alte boli renale cronice, chisturi renale, boala Cushing, tratament cu vincristin\vinblastin

* în prezenţa unei trombocitoze fără explicaţie etiologică, trebuie suspicionat şi investigat un eventual neoplasm.

După Thomas Bithell

DIAGNOSTICUL DIFERENŢIAL

Criteriile de diagnostic pozitiv ale trombocitemiei esenţiale, cu excepţia numărului de trombocite în sângele periferic de peste 600.000/mm^3, sunt criterii negative ce impun excluderea altor contexte ce asociază trombocitoza, respectiv sindroamele mieloproliferative cu componentă trombocitară şi trombocitozele reactive (vezi tabelul).

***Tabel* 25**

Criterii de diferenţiere între TE şi TR

CRITERII	TROMBOCITEMIA ESENTIALA (TE)	TROBOCITOZE REACTIVE (TR)
Criterii trombokinetice		
Masa megakariocitara totală	Mult crescută	Uşor crescută
- numărul de megakariocite	Crescut	Crescut
- volumul megakariociar	Crescut	Scăzut
Turnover-ul plachetar	Crescut	Crescut
Masa plachetară total	Crescut	Crescut
Durata de viaţă plachetară	Normal sau uşor scăzut	Normal
Criterii clinice şi biologice		
Hemoragii şi tromboembolii	Frecvente	Rare
Durata	Persistentă	Adesea tranzitorie
Splenomegalie	Prezentă (>80%)	Absentă
Trombocite	De obicei > 1.000.000/mm^3	De obicei < 1.000.000/mm^3
Timpul de sîngerare	Adesea prelungit	Normal
Morfologie şi funcţie Tr	Adesea alterate	De obicei normale
Leucocite	Crescute (>90%)	Deobicei normale

I. EVOLUŢIE

Evoluţia bolii este adesea cronică, cu incidente vasculare, întreţăind perioade de latenţă cu durată variabilă, în ciuda faptului că numărul de trombocite rămâne crescut. Durata de supravieţuire este variabilă, putând ajunge până la 15-20 ani. Riscul vital se datorează complicaţiilor survenite în evoluţie. Complicaţiile pot fi vasculare sau hematologice.

➢ **Complicaţiile vasculare** se manifestă prin accidente trombotice şi/sau hemoragice. Accidentele hemoragice apar mai frecvent când trombocitele cresc peste 1.500.000/mm^3. Riscul morbidităţii şi mortalităţii prin accidente vasculare creşte cu vârsta, fiind major la cei peste 60 ani.

➢ **Complicaţiile hematologice**. Datorită evoluţiei îndelungate a bolii, există timpul necesar emergenţei altor proliferări hematologice. Astfel, unii pacienţi dezvoltă în timp o poliglobulie primitivă, ceea ce demonstrează suprapunerea sindroamelor mieloproliferative.

Complicaţia tardivă majoră este evoluţia spre mielofibroză (5%), spre leucemie granulocitară cronică (3-4%) sau, mai rar, spre leucemii acute.

PROGNOSTIC

Analiza seriilor de pacienţi cu trombocitemie esenţială a permis depistarea unor factori prognostici pentru evoluţia spre complicaţii hemoragice sau trombotice. Astfel, vârsta peste 60 ani, cât şi antecedentele trombotice, asociate cu factori de risc cardio-vasculari, cresc riscul

unor complicaţii trombotice. Trombocitozele extreme (peste 1 – 2 milioane/mm^3) se asociază cu un risc hemoragic crescut. Prezenţa acestor factori a permis stratificarea pacienţilor în funcţie de risc şi astfel adaptarea terapiei.

Tabel 26 : Grupele de risc în TE

GRUPA DE RISC	CRITERII
Scăzut	- vârsta sub 60 ani - absenţa antecedentelor trombotice - trombocite sub 1.500.000/mm^3 - absenţa factorilor de risc cardiovasculari (fumat, obezitate, HTA)
Crescut	- vârsta peste 60 ani - prezenţa antecedentelor trombotice
Intermediar	- nici cu risc scăzut, nici cu risc crescut

TRATAMENT

a) Modalităţi terapeutice

Tratamentul de bază al bolii urmăreşte scăderea producţiei trombocitare cu scăderea numărului de trombocite în sângele periferic pentru prevenirea sau rezolvarea accidentelor vasculare. Pentru atingerea acestui scop, posibilităţile terapeutice sunt :

- ***Trombocitafereza*** realizată cu ajutorul separatoarelor de celule poate fi utilizată în situaţiile de urgenţă pentru scăderea rapidă a cifrei trombocitare sub 400.000/mm^3, însă soluţia este paliativă şi temporară (ore-zile).
- ***Fosforul radioactiv*** (P^{32}) este un radionuclid care emite particule-beta cu efect mielosupresiv. Afectează toate liniile celulare. Administrat în doze de 0,5 - 1 mCi/10 kg, poate scădea trombocitele către valori normale în 1-2 luni, pentru o durată variabilă de luni - ani. Doza se poate repeta, eventual, la 3–6 luni. Ca efecte secundare, antrenează citopenii uşoare tranzitorii. În sub 10% din cazuri, poate antrena pancitopenii prelungite, predominant la vârstnici. Este rezervat pentru persoanele în vârstă.
- ***Hydroxyuree*** (antimetabolit, inhibitor de ribonucleotid reductază) reprezintă la ora actuală tratamentul de primă intenţie. Este mai uşor de manipulat, cu risc aplaziant mai redus, ca şi cu risc mutagen mai mic decât pentru agenţii alkilanţi. Se administrează iniţial în doze de 1.000-1.500 mg/zi mai multe săptămâni, cu scăderea ulterioară a dozelor, în funcţie de hemogramă. Are un efect rapid, în câteva zile. Este drogul cel mai utilizat.
- ***Pipobroman (Virecyt)*** este eficace în trombocitemia esenţială, administrat în prima intenţie sau la cei cu rezistenţă primară sau secundară la Hydroxyuree. Doza de atac este de 1,25 mg/kg/zi (3-4 cp de 25 mg/zi).
- ***Anagrelid*** este o imidazoquinazolină care interferează cu diferenţierea terminală a megakariocitelor. Afectază predominant producţia plachetară, conducând la scăderea dimensiunilor şi a anomaliilor morfolgice ale trombocitelor. Se administrează oral. Se demarează cu doze de 0,5 - 1 mg de 3 – 4 ori pe zi. Efectele adverse principale sunt : palpitaţii, tahicardie (efect vasodilatator şi inotrop pozitiv), cefalee, greţuri, vărsături, diaree.

- ***Interferon alfa*** are un efect mielosupresiv, afectând toate liniile celulare. Se administrează în doze de 3–5 MUI de 3–5 ori pe săptămână. Efectul se instalează în 2–6 luni. Aproximativ 80% din cei trataţi pot instala o remisiune care rămâne stabilă doar la 10% după întreruperea tratamentului. Costul e prea mare şi efectele secundare sunt prea importante. Totuşi, IFN poate fi util în tratamentul bolii la gravide, mai ales la cele cu avorturi repetate în antecedente.

În cazul în care există sideropenie, se impune corectarea acesteia, ceea ce poate antrena o scădere a trombocitelor.

* Utilizarea **Aspirinei** ca antiagregant plachetar este larg acceptată, cu indicaţie pentru pacienţii cu tulburări în microcirculaţie (eritromelalgie, anomalii neurologice tranzitorii, ischemii oculare), în timpul sarcinii, ca şi la cei cu antecedente de tromboze arteriale. Se utilizează doze de 100-300 mg/zi în absenţa contraindicaţiilor şi cu aprecierea riscului hemoragic. Pentru fiecare pacient va fi apreciat riscul trombotic şi cel hemoragic. Utilizarea asociată sau izolată a altor antiagregante plachetare nu pare a ameliora efectul.

b) Strategia terapeutică

Strategia terapeutică trebuie să ţină seama de doi factori principali: urgenţa tratamentului şi vârsta pacientului. Având în vedere că, pentru mare parte dintre pacienţi, speranţa de viaţă este similară cu a populaţiei generale, trebuie să se ţină cont de gradul de risc înainte de a demara un tratament mielosupresor şi să se cântărească beneficiul terapeutic în raport cu toxicitatea sa. Pentru pacienţii cu risc scăzut, se preferă abţinerea de la tratament şi doar supravegherea.

➢ ***În accidentele hemoragice se impune*** :

- oprirea oricărui tratament anti-agregant plachetar ;
- transfuzia de concentrate plachetare normale, în ciuda numărului mare de trombocite circulante;
- reducerea numărului de trombocite prin trombocitaferează ;
- administrarea de hydroxyuree 2-4 g/zi, timp de 3-4 zile, poate determina scăderea rapidă a trombocitelor, în 4-5 zile. Ulterior, doza de administrat se modulează sub monitorizarea hemogramei.

➢ ***În accidentele ischemice/trombotice se impune :***

- utilizarea de antiagreganţi plachetari, după excluderea unui accident hemoragic. Aspirina în doze de 300 mg/zi reprezintă alegerea optimă;
- în cazul celor cu tromboză clară, se recomandă utilizarea tratamentului anticoagulant cu heparină, continuat ulterior cu antivitamine K, dar atenţie la creşterea importantă a riscului hemoragic;
- pentru scăderea trombocitelor, se poate apela la trombocitaferează, dar hydroxyureea este alegerea optimă;
- administrarea de hydroxyuree 2-4 g/zi, timp de 3-4 zile, poate determina scăderea rapidă a trombocitelor, în 4-5 zile. Ulterior, doza de administrat se modulează sub monitorizarea hemogramei.

➢ ***Strategia terapeutică de lungă durată, în afara accidentelor vasculare***:

- La pacienţii cu risc scăzut (sub 40 ani, total asimptomatici, Tr < 1-1,5x10^6/mm^3, fără factori de risc cardio-vasculari), se preferă atitudinea de supraveghere activă şi începerea tratamentului doar în cazul apariţiei unor factori de risc sau manifestări clinice.
- La pacienţii cu risc intermediar, crescut, la cei simptomatici (în afara tratamentului manifestării clinice), tratamentul de prima intenţie este Hydroxyuree în doze de 15-20 mg/kg/zi sub supravegherea hemogramei. Doza se modulează pentru menţinerea Tr < 600.000/mm^3 şi GA în limite normale.
- În caz de eşec al tratamentului cu Hydroxyuree, la pacienţii peste 40 ani, se va folosi Pipobroman care nu dă rezistenţă încrucişată. În caz de apariţie a rezistenţei la acesta, se va utiliza Interferon-alfa.
- În caz de eşec al tratamentului cu Hydroxyuree, la pacienţii sub 40 ani, se va utiliza Interferon-alfa, datorită absenţei efectului mutagen. În caz de eşec, se va trece la Anagrelid.
- În caz de sarcină, pentru evitarea drogurilor citotoxice cu efect teratogen pentru făt, se va prefera Interferon-alfa.
- La pacienţii în vârstă, cu speranţa de viaţă redusă, în caz de eşec al precedentelor, se poate utiliza P^{32}.
- La cei mai tineri dintre pacienţi, se prefera Anagrelid.

Splenectomia este contraindicată. Se va recurge doar în caz de necesitate, sub protecţie de anticoagulante şi antiagregante plachetare, eventual trombocitafereză.

OSTEOMIELOFIBROZA

GENERALITĂŢI

Osteomielofibroza se caracterizează prin creşterea cantitativă a colagenului medular. Modificarea este recunoscută în plan histologic prin creşterea fibrelor de reticulină. Mielofibroza nu corespunde unei singure boli, este mai degrabă un sindrom clinico-biologic. În mare parte din cazuri, mielofibroza este secundară unor alte patologii, dar ea poate aparăeaşi în mod primitiv, ca un sindrom idiopatic. În acest ultim caz, fibroza este însoţită de o hematopoieză extramedulară, şi este încadrată în grupul bolilor mieloproliferative.

PATOGENIE

- La apariţia mielofibrozelor par a contribui două mecanisme :
  - o insuficienţă de degradare a colagenului - prin inhibarea colagenazelor (de origine neutrofilică, monocitară, endotelială, fibroblastică) de către inhibitori specifici (de origine fibroblastică şi plachetari) ;
  - o creştere a sintezei de colagen.
- Osteomielofibroza primitivă, sau idiopatică, este o boală mieloproliferativă caracterizată prin afectarea clonală a unei celule suşe hematopoietice multipotente. Această proliferare clonală implica şi linia megakariocitară, putând avea diferite consecinţe. Fie o

megakariopoieză ineficientă, cu liza megakariocitară, sau formarea de « trombocite gri », cu tulburare de granulare şi deversarea rapidă a conţinutului granular în mediul extracelular. Rezultă eliberarea în exces de factori plachetari de creştere (PDGF, TGF alfa, TGF beta, EGF), agenţi chimiotactici pentru fibroblaste (factorul 4 plachetar, beta-tromboglobulina, PDGF) cât şi un inhibitor de colagenază. În consecinţă are loc acumularea cu proliferarea secundară de fibroblaste, creşterea producţiei de colagen şi inhibarea degradării sale. Progresia fibrozei colagenice conduce la alterarea arhitectonicii medulare şi afectarea hematopoiezei. În final apare osteoscleroza.

- Apariţia unei hematopoieze extramedulare sau metaplazia mieloidă (în splină, ficat, alte organe) în caz de mielofibroza primitivă, pare a se datora (ipotetic) distrugerii prin fibroză a micromediului medular. Astfel, celulele suşe hematopoietice circulante au tendinţa de a coloniza alte teritorii care, în procesul ontogenetic, au fost situsuri de hematopoieză. Fenomenul lipseste în cazul mielofibrozelor secundare.
- Mutaţia JAK2-V617F a fost regăsită la 58% dintre pacienţii cu mielofibroză primitivă cu forma homozigotă la doar 13% dintre ei. Prezenţa mutaţiei se corelează cu o supravieţuire mai scurtă iar forma homozigotă asociază şi anomalii citogenetice cu prognostic rezervat. La 9% dintre pacienţi s-au regăsit mutaţii în MPL.

MIELOFIBROZA PRIMITIVĂ

- Mielofibroza primitivă sau mielofibroza cu metaplazie mieloidă (*metaplazia mieloida agnogenica* din literatura anglo-saxonă) este o boală mieloproliferativă cronică, caracterizată prin fibroză medulară, splenomegalie, leucoeritroblastozăşi prezenţa de dacriocite în sângele periferic şi hematopoieză extramedulară.
- Etiologia rămâne necunoscută.
- Este o boală rară cu incidenţa anuală în Europa, Australia şi America de Nord ce variază între 0,5 şi 1,3 cazuri la 100.000 persoane.
- In Japonia, MFP este considerată o boală rară cu doar 84 cazuri communicate la 100.000 de persone autopsiate.
- mediana vârstei la diagnostic este de aproximativ 65 ani, cu majoritatea pacienţilor cu vârste cuprinse între 50 şi 69 ani.
- repatiţia pe sexe este aproximativ egală, unele serii indicând o predominanţă feminină.

1. Clinica

Aproximativ 25% dintre pacienţi sunt asimptomatici diagnosticul fiind ocazionat de evidenţierea fortuită a unei splenomegalii sau a unor anomalii ale hemogramei. Manifestările clinice pot apare datorită :

- ***Anemia*** ca rezultat al eritopoiezei ineficiente, hipoplaziei eritrocitare si hipersplenismului → astenie, fatigabilitate, dispnee, palpitaţii.
- ***Splenomegalie*** → discomfort în hipocondrul stâng, senzaţie de saţietate precoce. În caz de infarcte splenice, perisplenită sau hematoame subcapsulare se asociază dureri intense în hipocondrul stâng cu iradiere în umarul stâng, frecatură splenică.

- ***Status hipermetabolic***→febră, transpiraţii nocturne, scădere ponderală, dureri osoase. Se pot asocia manifestări de tip gută sau litiază uratică.
- ***Manifestări hemoragice***→ variabil de la peteşii la HDS. Se datorează disfuncţiei trombocitare, deficit dobândit de factor V, trombocitopeniei, CIVD.
- ***Hematopoieza extramedulară***- poate antrena simptome legate de organul implicat → hemoragii digestive, compresiuni ale măduvei spinării, atacuri cerebrale tranzitorii, ascită, hematurie, pericardită, pleurezie, hemoptizie, insuficienţă respiratorie.
- ***Hipertensiune portală*** datorită unui flux splenoportal crescut → ascita, varice esofagiene, HDS, encefalopatie portală.
- ***Osteoscleroza***→ dureri osoase şi articulare intense.
- ***Anomalii ale imunităţii umorale*** (50% dintre pacienţi) → infecţii variabile, predominant pneumonii.

Semnul clinic major şi cvasi-constant (97-100%) este splenomegalia. Adesea este importantă, de gradul III. Hepatomegalia este semnalată la 50% dintre pacienţi, mai rar adenopatii. Alte semne întâlnite : paloare, subicter (hematopoieza ineficace), purpura peteşialăsi echimotică, surditate prin otoscleroză.

2. Examene Paraclinice

*** Hemograma evidenţiază :**

a. Linia eritrocitară :

- anemie normocromă, normocitară, adesea severă, foarte rar poliglobulie, mai ales la debut;
- anizocitoză, poikilocitoză, ovalocitoză, mai ales prezenţa de hematii în lacrimă (dacriocite), semn caracteristic ;
- prezenţa de eritroblaşti circulanţi ;
- mecanismul patogenic este mixt : eritropoieza ineficace, sechestraţie splenică, hemodiluţie, carenţe vitaminice şi marţiale, hemoliză.

b. Linia granulocitară :

- hiperleucocitoză în 50 - 70% din cazuri cu polinucleoză ;
- prezenţa unei mielemii moderate cu mielocite şi metamielocite, uneori până la mieloblaşti ;
- eozinofilie moderată, bazofilie, monocitoză ;
- semne de mielopoieză ineficace.

c. Linia trombocitară :

- hiperplachetoză la 50% din pacienţi, în momentul diagnosticului ;
- trombocitopenia apare adesea în evoluţie, progresivă, datorată unei megakariopoieze ineficace şi scăderea duratei de viaţă, şi captării splenice (hipersplenism) ;
- semne de megakariopoieză ineficace cu micromegakariocite şi fragmente megakariocitare circulante ;
- se asociază semne de hipofuncţie trombocitara cu tendinţa la sângerare şi alungirea timpului de sângerare.

*** Examinarea maduvei osoase :**

- ***Mielograma*** : adesea puncţia medulară este albă sau foarte saracă, punând probleme de diagnostic. Când puncţia este reuşita, frotiul poate fi normal sau evidenţiază o creştere cantitativă a numărului de precursori neutrofili şi a megakariocitelor. Megakariocitele prezintă adesea anomalii morfologice, mai evidente în microscopia electronică, cu prezenţa de micro-, şi mai ales macromegakariocite cu nuclei polilobaţi şi intens deformaţi.
- ***Biopsia medulara*** : este necesară pentru punerea în evidenţă a fibrozei medulare. La acesti pacienţi au fost puse în evidenţa diferite grade de fibroză.
- ***Hematopoieza extramedulară*** este un element important în mielofibroza idiopatică. Aceasta este prezentă predominant la nivelul splinei şi ficatului, dar şi la nivelul altor organe precum : ganglioni, rinichi, suprarenale, peritoneu, intestin, pleura, plamâni, piele, sân, ovare, timus.

*** Examenele biochimice :**

- vitamina B12 ssi transcobalaminele sunt crescute ;
- acidul uric este crescut ;
- histaminemia şi lizozimul sanguin şi urinar sunt crescute ;
- lacticodehidrogenaza (LDH) serică crescută, semn de hematopoieză ineficientă şi hempliză ;
- fosfataza alcalină leucocitară este frecvent crescută .
- bilirubina, fosfataza alcalină, transaminazele sunt crescute la 40-60% dintre pacienţi
- feritina serică poate fi scăzută
- coagularea – semen de CID cronic în 15% din cazuri, defecte de agregabilitate plachetară.

*** Examenul citogenetic** : studiile de citogenetică şi de biologie moleculară nu a pus în evidenţă anomalii cariotipice patognomonice. Totusi, au fost evidentiate anomalii la peste 50% din pacienţi. Cele mai frecvent semnalate sunt 13q-, 20q-, 1q+, +8, +9, t(1 ;7), der(6), t(1 ;6). Examenul este necesar si pentru a evidenţia absenţa cromosomului Philadelphia, permiţând diferenţierea de LMC.

3. Diagnosticul

Diagnosticul pozitiv al bolii se bazează, în principal pe hemogama, cu aspectul ei particular, descris mai sus, şi pe biopsia medulară, la care se adaugă punerea în evidenta a hematopoiezei extramedulare. OMS a formulat in 2008 criteriile de diagnostic pentru MFP cuprinzand criteria majore si minore :

Criterii majore :

- Prezenta unei ***proliferari megakariocitare crescute*** cu atipii,* asociata, de obicei, fie de o fibroza reticulinica si/sau colagenica, sau, in absenta unei fibroze reticulinice semnificative, modificarile megakariocitare trebuie insotite de o crestere a celularitatii medulare caracterizate prin proliferare granulocitara si adesea eritropoieza scazuta (ie, faza celulara prefibrotica)

- ***Neindeplinirea criteriilor*** OMS pentru PRV,** LMC,*** SMD,**** sau alta neoplazie mieloida
- ***Demonstrarea prezentei JAK2V617F*** sau alt marker clonal (eg, *MPLW*515L/K), sau in absenta unui marker clonal nici un semn de fibroza medulara secundara unei patologii inflamatorii sau neoplazii subjacente

Criterii minore :

- Leucoeritroblastoza
- Cresterea nivelului LDH
- Anemie
- Splenomegalie palpabila

Diagnosticul necesita prezenta celor 3 criterii majore si doua criterii minore.

4. Diagnosticul diferenţial

Diagnosticul diferenţial impune eliminarea celorlalte sindroame mieloproliferative şi mielodisplazice, mai ales la debutul bolii, şi diferenţierea de fibrozele secundare, mai ales în contextul unor metastaze medulare.

Tabel 27

BOLI ASOCIATE CU MIELOFIBROZA REACTIVĂ	
Boli maligne	**Boli nemaligne**
Leucemia acută limfoblastică	Bolile granulomatoase
Leucemia acută mieloblastică	Boala Paget osoasă
Leucemia acută megakarioblastică	Osteoporoza
Leucemia acută cu precursori mastocitari	Osteodistrofia renală
Sindroamele mieloproliferative	Hipo- sau hiperparatiroidism
Sindroamele mielodisplazice	Deficit în vit D
Leucemia limfatică cronică	Sindromul plachetelor gri
Leucemia cu tricoleucocite	Boala Gaucher
Boala Waldenström	Lupus eritematos sistemic
Mielom multiplu	Scleroza sistemică
Boala Hodgkin	Tuberculoza
Limfoamele non-hodgkiniene	Rickettsioza
Metastazele medulare carcinomatoase	Infecţiile virale, mai ales HIV
Mastocitoza sistemică	Intoxicaţiile cu thoriu benzen, melphalan
	Expunerea la radiaţii

5. Evoluţie şi prognostic

- Evoluţia bolii este variabilă.
- Durata de supravieţuire este dificil de apreciat, ţinând cont de perioada asimptomatică ce precede diagnosticul şi care nu poate fi evaluată. Perioada asimptomatică a fost apreciată la o durată de 1 - 15 ani, cu o supravieţuire după diagnostic de 10 - 15 ani. Au fost semnalate vindecări spontane.
- Prognosticul este variabil. Există forme cu evoluţie rapidă, subacută, iar altele cu prognostic bun şi evoluţie indolentă.

- Mediana de supravieţuire la pacienţii cu MFP este de 3.5-5.5 ani. Rata de supravieţuire la 5 ani este jumătate din cea aşteptată pentru populaţia corespunzătoare la vârstă şi sex. Mai puţin de 20% dintre pacienţi vor mai fi în viaţă la 10 ani de la diagnostic.
- Cauzele comune de deces sunt infecţiile, hemoragiile, insuficienţa cardiacă, mortalitate postsplenectomie, transformarea leucemică (care survine la 20% din pacienţi în primii 10 ani).
- Printre factorii care asociază o supravieţuire redusă sunt prezenţa anemiei, vârsta avansată.
- Factori de prognostic defavorabil :
  1. vârsta pacientului
  2. anemia – Hb < 10 g/dl, necesar transfuzional crescut
  3. valori extreme ale leucocitozei (sub 4.000/mm^3 sau peste 30.000/mm^3)
  4. anomalii de cariotip

  Au fost formulate noii factori prognostici :

  a. vârsta peste 64 ani
  b. Hb sub 10 g/dl
  c. GA peste 25.000/mm^3
  d. prezenţa de semne de evolutivitate (febră, transpiraţii, scădere ponderală)
  e. blaşti circulanţi peste 1%

  Pe baza lor, s-a formulat un scor prognostic denumit IPSS (*International Prognostic Score Sistem*)

***Tabel* 28**

SCORUL PROGNOSTIC AL GRUPULUI INTERNAŢIONAL DE CERCETARE ŞI TRATAMENT AL MIELOFIBROZEI			
GRUPUL DE RISC	**NR DE FACTORI DE RISC**	**PROPORŢIA DE PACIENŢI**	**MEDIANA DE SUPRAVIEŢUIRE (LUNI)**
Scăzut	0	22	135
Intermediar 1	1	29	95
Intermediar 2	2	28	48
Inalt	➢ 3	21	27

Ulterior, s-au identificat şi alţi factori de prognostic independenţi, care au permis formularea unui alt scor prognostic – D(inamic)IPSS Plus. Aceşti factori cuprind :

- cariotipul nefavorabil (cariotip anormal complex sau numai două anomalii care includ +8, -7/7q-, i(17q), -5/5q-, 12p-, inv(3), sau 11q23)
- necesarul transfuzional eritrocitar
- trombocitopenia

6. Complicaţii

În evoluţia bolii pot apărea diverse complicaţii care influenţează morbiditatea şi mortalitatea la aceşti pacienţi.

- ***Pancitopenia*** - se datorează unui complex etiologic ce include ca factor principal insuficienţa medulară alături de hemodiluţie, hipersplenism, mecanism auto-imun.
- ***Transformarea în leucemie acută*** - poate surveni în evoluţie până la 25% dintre pacienţi. Apariţia pare a fi favorizată de tratamentul citostatic sau de radioterapie.
- ***Hepatopatia şi hipertensiuna portală*** - etiologia este multiplă : fibroză hepatică, splenomegalie cu hipertensiune portală de aport, hematopoieză intrasinusoidală, compresiune sau tromboză de venă portă, tromboză de vene suprahepatice (sdr. Budd-Chiari), hemocromatoză post-transfuzională.
- ***Alterarea majoră a stării generale*** – inexplicabilă, cu scăderi în greutate, anorexie, edeme la membrele inferioare.
- ***Insuficienţa cardiacă*** - (30%). Este una din cauzele majore de deces.
- ***Complicaţiile legate de splenomegalie*** - rupturi splenice spontane sau traumatice, sau infarct splenic.
- ***Tumorile de ţesut hematopoietic cu compresiuni de vecinătate*** : compresiune pe vena portă prin tumori mezenterice sau retroperitoneale, compresiuni medulare, mase intracraniene, mase tumorale la nivelul seroaselor cu serozite, obstrucţie ureterală cu insuficienţă renală, obstrucţie a vaselor pulmonare.
- ***Amiloidoza*** - complicată cu sindrom nefrotic.

7. Tratament

Pâna în prezent, nu a fost validat nici un tratament care să modifice în mod evident evoluţia şi supravieţuirea la aceşti pacienţi sau să aibă vreun efect pozitiv asupra procesului de mielofibroză. Mai mult, tratamentele agresive par a influenţa negativ evoluţia bolii. În acest context, tratamentul de bază este acela de susţinere şi de combatere directă a complicaţiilor legate de citopenii, organomegalie, status hipercatabolic, metaplazie mieloidă în diferite organe.

Evoluţia bolii este variabilă, uneori cu perioade de remisiune aparentă, astfel, mulţi pacienţi nu necesită nici un tratament pe perioade mai îndelungate. Pacienţii asimptomatici vor fi urmăriţi periodic, fără tratament. Anemia şi trombocitopenia pot fi severe şi necesită aport transfuzional.

➢ ***Anemia*** - tratamentul depinde de etiologia sa. În general,

- anemiile severe impun transfuzii cu masă eritrocitară.
- anemiile moderate - acid folic, preparate de fier (atenţie la regimul transfuzional şi încărcarea cu fier - în cazul unui necesar transfuzional crescut, se poate impune un tratament chelator marţial cu Desferal sau Deferasirox), vitamina B6.
- anemia cu componentă autoimună demonstrată - Prednison 1 mg/gk/zi cu modulare ulterioară, în funcţie de valoarea Hb.

- anemia severă prin insuficienţă de producţie - hormoni androgeni. S-a utilizat Oxymetholone în doză de 2-4 mg/kg/zi sau Danazol în doze de 600 mg/zi (mai puţin toxic) timp de 3-6 luni. Tratamentul androgenic poate fi utilizat şi la pacienţii care asociază trombocitopenie, determinând redresarea trombocitară.
- Eritropoietina poate antrena răspunsuri favorabile cu creşterea nivelului Hb şi reducerea necesarului transfuzional.

➢ ***Hiperuricemie*** - Allopurinol 300 mg/zi în caz de nivel seric crescut al acidului uric.

➢ ***Radioterapia*** se recomandă în :

- iradierea situsurilor de hematopoieză extramedulară simptomatice
- durerile osoase cauzate de tumori granulocitare sau periostită
- iradierea splenică la pacienţii cu splenomegalie simptomatică sau infarcte splenice la care splenectomia este cotraindicată. Răspunsul este temporar (durata mediană - 6 luni). La ¼ din pacienţi poate surveni o pancitopenie post-radioterapie. Nu se recomandă pre-splenectomie deoarece poate creşte riscul hemoragic post-operator.

➢ ***Splenectomia*** - mult timp contraindicată la aceşti pacienţi, datorită riscului de aplazie în caz de hematopoieză splenică pură, este indicată în anumite situaţii :

- trombocitopenie majoră în context de hipersplenism
- anemie severă cu necesar transfuzional crescut şi sechestraţie splenică crescută
- splenomegalie dureroasă
- hipertensiune portală de aport, infarcte splenice repetate
- poate fi urmată de hepatomegalie progresivă şi trombocitoză, asociază un risc crescut de transformare în leucemie acută (LAM).

➢ ***Chimioterapia*** - a fost recomandată în ideea că boala este o proliferare monoclonală a celulei stem. A fost administrată cu scopul de a diminua cifra globulară în caz de trombocitoză, poliglobulie sau leucocitoză asociate, şi pentru diminuarea splinei.

- Hydroxyureea, în doze de 0,5-1 g/zi. In caz de eşec, se poate utiliza Pipobroman în doze de 25-50 mg/zi.
- Interferon-alfa reprezintă o bună alternativă a tratamentului citostatic. Se demarează cu doze de 5MU x 3-5/săptămână. După obţinerea răspunsului, dozele pot scădea la 1-2 MUI x 3/săptămână.
- Melfalan în doze mici - 2.5 mg x 2/săptămână şi Busulfan - 2 mg/zi 1-2 luni, cu repetare la 3-6 luni.
- Cladribina la pacienţii refractari, cu celularitate sanguină crescută - 0.05-0.1 mg/kg/zi x 7 zile lunar, timp de 5 cicluri.
- Talidomida în doze mici (50 mg/zi), asociată cu Prednison, sau Lenalidomida - 10 mg/zi 3-4 luni, cu ameliorarea citopeniilor şi diminuarea splinei.

➢ ***Allografa de celule stem*** - la ora actuală, reprezintă singura şansă de a obţine vindecarea în caz de osteomielofibroză primitivă, dar gestul este limitat de vârsta pacientului (majoritatea au peste 50 ani) şi de existenţa donatorilor potenţiali. Fiind unica posibilitate de vindecare,

trebuie luată în discuţie la orice pacient tânar şi cu donator potenţial. Momentul optim de grefare nu este standardizat.

- Au mai fost testate şi alte droguri, precum eritropoietina, vitamina D3 (ambele pentru controlul anemiei din cadrul bolii), Colchicina, Penicillamina, Ciclosporina, 2-Clorodeoxiadenozina (mai ales în cazurile cu hiperplachetoză şi hepatomegalie secundare splenectomiei), Interleukina-4, bifosfonatele, Anagrelid (în cazurile cu hiperplachetoză).
- **Noi medicamente** :
  - Agenţi imunomodulatori şi anti-angiogenici (Talidomida, Lenalidomida…)
  - Inhibitori de Jak2-kinaza - **Ruxolitinib (Jakafi)** este un inhibitor de *JAK1*/*JAK2* şi reprezintă primul agent chimioterapic aprobat de FDA în terapia mielofibrozei. Antrenează reducerea dramatică a volumului splenic şi a simptomelor legate de boală. Cele mai frecvente efecte secundare au fost trombocitopenia, anemia, diareea şi edemele.
  - Agenţii hipometilanţi

Strategie terapeutică - în general, se recomandă :

- la pacienţii cu doi sau mai mulţi factori de prognostic rezervat, se impune transplant precoce ;
- la pacienţii cu un singur factor de risc, se va recurge la tratamentul de susţinere, eventual citostatic, şi, în caz de apariţie a altor factori de risc, se va recurge la allografă
- la pacienţii fără factori de risc, se preferă supravegherea periodică şi tratament doar în cazul apariţiei factorilor de risc sau a complicaţiilor ;
- la pacienţii fără donatori potenţiali şi/sau vârsta de peste 50 ani, se va folosi tratamentul convenţional (susţinere şi citostatice), la cei mai tineri – interferonul.

- **Risc scăzut sau intermediar-1**
  - asimptomatic: Watch and Wait
  - simptomatic: terapie convenţională
- **Risc intermediar-2 sau înalt**
  - Terapie convenţională
  - Splenectomie
  - Radioterapie
  - Allo-SCT
  - Terapie cu droguri experimentale

LIMFOAMELE

BOALA HODGKIN (B.H.)

INTRODUCERE

- Boala Hodgkin este o afecţiune tumorală malignă a ţesutului limfoid (entitate distinctă în cadrul limfoamelor maligne), al cărei diagnostic se bazează pe un criteriu strict morfologic: prezenţa de celule Sternberg-Reed pe fondul unui infiltrat celular limfoid polimorf şi variabil.
- BH prezintă, în general, un debut ganglionar unifocal. Extinderea se realizează în majoritatea cazurilor pe cale limfatică, din aproape în aproape, către teritoriile ganglionare adiacente, urmând sensul fiziologic al fluxului limfatic. Există forme rare, generalizate de la debut.
- Diagnosticul de BH se bazează pe biopsia unei adenopatii infiltrate sau, mai rar, a unei alte mase tumorale extraganglionare.
- O vindecare este obţinută la aproximativ 80% dintre pacienţi, însă evoluţia diferă mult, în funcţie de stadiul bolii la diagnostic.

EPIDEMIOLOGIE

- Incidenţa bolii în Europa şi America de Nord este de aproximativ 2-3 cazuri la 100.000 locuitori.
- Incidenţa a rămas constantă în ultimii douăzeci de ani, în timp ce mortalitatea prin boală Hodgkin a scăzut de la peste 2 la aproximativ 0,5 la 100.000 locuitori (datorită progreselor realizate în strategia terapeutică).
- Boala poate surveni la orice vârstă, dar prezintă o distribuţie predominant bimodală, cu creşterea frecvenţei la pubertate, atingând un maximum către 30 de ani, o nouă creştere a frecvenţei înregistrându-se după vârsta de 50 de ani.
- Boala predomină la bărbaţi (2/1).

PATOGENIE

- Originea celulei Sternberg-Reed a rămas mult timp necunoscută. Recent, a fost demonstrat că această celulă, în majoritatea cazurilor, este de origine limfoidă B.
- Originea celulelor HRS din limfomul Hodgkin clasic a fost foarte dificil de identificat, dat fiind faptul că aceste celule au un imunofenotip care nu corespunde nici uneia din sistemul hematopoietic, coexprimând markeri din mai multe linii celulare. Totuşi, aceste celule prezintă, în majoritatea cazurilor, rearanjamente şi mutaţii somatice la nivelul genelor Ig V. În plus, în aproape 25% din cazuri, mutaţiile somatice de la nivelul IgV erau distructive, făcând gena nefuncţională (mutaţii nonsens). Astfel de mutaţii apar în celulele B din centrul germinativ, dar, în mod normal, antrenează moartea acestor celule. Acest fapt sugerează că celulele HRS derivă din celulele B modificate (crippled) pre-apoptotice din centrul germinativ. Este posibil ca celulele HRS să-şi aibă originea în celulele B din centrul

germinativ care au căpătat mutaţii nefavorabile, ce presupun iniţierea apoptozei, dar supravieţuiesc şi iniţiază transformarea malignă în cooperare cu micromediul.

- Anchetele epidemiologice n-au permis să se obiectiveze cu certitudine factori etiologici genetici, de mediu sau virali (mai ales rolul jucat de virusul EBV). Totuşi, în 50% din cazuri, genomul EBV poate fi pus în evidenţă în celulele tumorale. Acest virus este regăsit în 100% din cazuri de BH la pacienţii purtători de HIV.
- Creşterea incidenţei BH a fost observată la pacienţii cu SIDA.
- Extensia bolii se face pe trei căi :
  - calea limfatică (principală) : extensie tumorală ganglionară din aproape în aproape
  - calea sanguină sau hematogenă : extensia la splină şi organele extralimfatice (ficat, măduva osoasă ...).
  - extensie prin contiguitate, plecând de la ganglionii infiltraţi (pericard, perete toracic...)

DIAGNOSTIC

1. Circumstanţe de diagnostic

Adenopatii superficiale :

- prezente în 80% din cazuri ;
- în 70% din cazuri sunt cervicale sau supraclaviculare (asociate de obicei cu adenopatii mediastinale şi para-aortice), iar în 10% din cazuri axilare sau inghinale ;
- sunt asimetrice, de talie inegală, de consistenţă fermă, nedureroase, neinflamatorii şi necompresive, deşi uneori pot creşte rapid ca volum, asociind fenomene inflamatorii şi compresive locale ;
- apariţia durerii într-un teritoriu ganglionar după ingestia de alcool este sugestivă pentru BH.

Adenopatii mediastinale:

- evidenţiate prin tuse, dispnee, disfonie, sindrom de venă cavă superioară sau descoperite fortuit la un examen radiologic toracic sistematic (10%);
- au aspect de opacităţi policiclice, asimetrice în mediastinul antero-superior;
- uneori prezenţa de adenopatii hilare pulmonare, mai ales în formele cu masă voluminoasă.

Splenomegalie

- splina poate fi implicată şi fără mărirea sa de volum;
- este implicată mai ales în cazul prezenţei de adenopatii de ambele parţi ale diafragmului, în asociere cu simptome generale, şi în tipurile histologice cu celularitate mixtă şi cu depleţie limfocitară.

Hepatomegalie - implicarea hepatică precoce este rară (5-6%), în aceleaşi contexte ca pentru splină.

Semne generale:

- febra prelungită, neregulată (38-39^0 C), fără focar infecţios decelabil;
- diminuarea apetitului cu scădere în greutate peste 10% în ultimile 6 luni;
- transpiraţiile abundente, predominant vesperale şi/sau nocturne ;
- pruritul generalizat cu semne de grataj.

Rareori ***forme generalizate*** de la debut, cu poliadenopatii, organomegalie, alterarea stării generale, febră prelungită.

Afectarea organelor extralimfatice poate surveni prin extensie de la un teritoriu ganglionar din vecinătate sau independent :

- hepatică - hepatomegalie, colestază
- pulmonară - opacităţi mai mult sau mai puţin regulate, uneori nodulare
- medulare - asociate cu citopenii variabile
- osoase (rare) - dureri adesea inflamatorii, leziuni adesea litice, uneori condensante
- ORL : implicarea inelului Waldeyer, de căutat sistematic, mai ales la cei cu adenopatii cervicale înalte
- seroase : pleurezie, pericardită.

Modul de debut al bolii este adesea dependent de subtipul histologic :

- predominanţa limfocitară : ganglionii cervicali superiori
- scleroza nodulară : implicarea supradiafragmatică şi mediastinală
- celularitatea mixtă : toracic superior sau de ambele parţi ale diafragmului
- depleţia limfocitară : adenopatii abdominale şi implicarea extralimfatică.

2. Examene biologice :

- ***Hemograma :***
  - anemie normocromă, normocitară de tip inflamator;
  - leucocitoză moderată, cu polinucleoză neutrofilă, eventual eozinofilie, monocitoză şi limfopenie;
  - uneori trombocitoză moderată;
  - rareori pancitopenie (prin invazie medulară);
  - excepţional, anemie şi/sau trombocitopenie autoimune.
- ***Măduva osoasă :***
  - este adesea normală;
  - poate fi invadată (de proliferatul patologic) în momentul diagnosticului în 15% din cazuri şi în 50% din cazurile aflate în stadiul IV, invadarea fiind adesea fără manifestare în sângele periferic;
  - invadarea este mai frecventă în cazurile cu masă tumorală mare şi semne de evolutivitate şi se caracterizează prin mielofibroză şi prezenţa de granuloame limfocitare cu sau fără celule Sternberg-Reed.
- ***Examene biologice*** :
  - VSH accelerată, hiperfibrinogenemie;
  - hipoalbuminemie cu creşterea alfa-2 şi gamaglobulinelor;

- hiperuricemie;
- diminuarea imunităţii celulare : negativarea testelor cutanate.

• ***Examenul histopatologic*** :

- rămâne examenul fundamental, asigurând diagnosticul de certitudine al bolii prin punerea în evidenţa a celulei **Sternberg-Reed**;
- examenul impune realizarea unei biopsii ganglionare dintr-o adenopatie periferică (suficient de voluminoasă) sau profundă, ocazional diagnosticul stabilindu-se în urma unei biopsii osteo-medulare, hepatice sau dintr-un alt organ ce apare implicat;
- examenul evidenţiază celulele tumorale, de obicei puţin numeroase (în jur de 5%), înconjurate de o populaţie de celule netumorale şi un grad de fibroză variabilă ce creează un fond reacţional de aspect variabil, subclasificabil, cu implicaţie evolutivă şi prognostică.

Celula Sternberg-Reed reprezintă celula indispensabilă diagnosticului. Aspectul clasic este cel de celulă gigantică cu citoplasmă abundentă, uşor eozinofilă, cu un nucleu bi- sau multilobat şi nucleoli mari, eozinofilici. Nucleolii sunt mari, cam de talia unui eritrocit, şi sunt înconjuraţi de un halou clar, dând aspectul de « ochi de bufniţă » (mai ales în cazul nucleilor bilobaţi, în oglindă). La analiza fenotipică, se evidenţiază: **Ki-1/CD30** (pozitivitate în 90% din cazuri), **CD40** şi **CD15** (pozitivitate în 80% din cazuri). Pe celulele aflate în ciclu celular, se pot pune în evidenţă antigenul **Ki-67**. Aproximativ 30% din celule exprimă antigene specifice liniei limfoide B de tipul **CD20**. Celula de origine este o celulă B din centrul germinativ (uneori pregerminală) transformată.

3. Clasificare histologica

Deşi punerea în evidenţă a celulelor neoplazice este esenţială pentru stabilirea diagnosticului pozitiv, aprecierea fondului histologic înconjurător este importantă pentru încadrarea în subtipul histologic şi aprecierea prognosticului. Dintre diferitele clasificări histologice, la ora actuală se utilizează cea a lui Rye, modificată de OMS în 1998 .

Această ultimă clasificare a rămas valabilă, dar tendinţa actuală este de a considera că există două tipuri de leziuni : unele corespunzând « bolii Hodgkin clasice » sau « adevăratei boli Hodgkin » ce regrupează primele trei subtipuri ; şi formele cu predominanţă limfocitară, care sunt considerate limfoame maligne ne-hodgkiniene cu fenotip B.

❖ ***Forma scleronodulară*** - reprezintă 60-70% din totalul cazurilor şi este mai frecventă la sexul feminin. Se caracterizează prin prezenţa de celule tumorale puţin numeroase înconjurate de celule inflamatorii (limfocite, plasmocite, polinucleare, histiocite, fibroblaşti), numeroase celule lacunare şi o fibroză care delimitează noduli celulari.

❖ ***Forma cu celularitate mixtă*** - reprezintă 20-30% din cazuri, fiind a doua formă ca frecvenţă. În această formă, celulele SR uşor de recunoscut sunt înconjurate de o bogată populaţie celulară reacţională, formată din polinucleare, predominant eozinofile, limfocite (T4>>T8), plasmocite, histiocite, fibroblaste, celule epitelioide.

❖ ***Forma cu depleţie limfocitară*** – denumită şi forma bogată în celule tumorale (sarcomul Hodgkin). Reprezintă 0,8-1% din cazuri, întâlnită mai frecvent la pacienţii mai vârstnici şi cu predominanţă masculină. Este considerată ca cea mai agresivă formă şi este adesea în stadiul

III sau IV la diagnostic. Aspectul histologic pretează la confuzii cu un limfom anaplazic cu celule mari. Diferenţierea se face pe baza analizei imunohistochimice.

❖ ***Forma bogată în limfocite*** - este o formă destul de rară, sub 3-5% din cazuri, definită prin prezenţa de celule SR înconjurate de o populaţie celulară netumorală, constituită aproape exclusiv din limfocite, mai ales T. Pot fi prezente rare histiocite, dar polinuclearele şi plasmocitele sunt absente. Comportă două varietăţi histopatologice : una nodulară şi una difuză.

BILANŢ DE EXTENSIE, STADIALIZARE

Odată ce diagnosticul este stabilit, bilanţul de extensie trebuie realizat cât mai complet pentru identificarea tuturor situsurilor tumorale iniţiale, cu rol prognostic şi terapeutic. Cuprinde :

- anamneză - informaţiile necesare : vârstă, sex, prezenţa sau absenţa semnelor B, de evolutivitate clinică (scădere în greutate cu peste 10% în ultimile 6 luni, febră peste 38^0 C fără focar infecţios, transpiraţii nocturne abundente), prezenţa unui prurit inexplicabil, dureri adenopatice induse de consumul de alcool, antecedente personale de contexte imunosupresive sau alte malignităţi, antecedente familiale ;
- examen clinic pentru bilanţul adenopatiilor superficiale (cu toate caracteristicile) şi organomegaliilor accesibile ;
- examen ORL pentru analiza inelului Waldayer;
- bilanţ al adenopatiilor profunde supradiafragmatice :
  - Rx toracică (incidenţă faţă şi profil), tomografie simplă sau computerizată;
- bilanţ al adenopatiilor profunde subdiafragmatice :
  - limfografie pedioasă bilaterală (examen de referinţă) cu fiabilitate mare pentru regiunile iliacă şi aortică joasă – tinde să fie înlocuită de tehnicile noi: scintigrafia cu galiu, tomografia cu emisie de pozitroni;
  - tomografie computerizată - mai fiabilă pentru grupele ganglionare din abdomenul superior;
  - echografie abdominală - prezintă un interes limitat.
- bilanţ medular - mielogramă şi biopsie medulară pentru aprecierea implicării medulare. Biopsia medulară este de preferat. Se recomandă în special în cazurile extinse, std. III, IV, cu mase tumorale mari, cu semne B, cu hemogramă modificată;
- bilanţul biologic cuprinde : hemograma, electroforeza, VSH, proteina-C reactivă, LDH şi Beta2-microglobulina (markeri indirecţi ai masei tumorale), funcţia hepatică (TGO, TGP, ALP, GGT, bilirubină) şi renală (uree, creatinină, acid uric, ionogramă), electroforeza proteinelor serice;
- bilanţ viral : HIV, EBV, virusurile hepatitice B şi C;
- eventual : fibroscopie bronşică (la cei cu masă tumorală mare), probe funcţionale respiratorii, biopsie hepatică, echocardiografie;

• în centrele dotate, se recomandă o CT cu Gallium (^{67}Ga) la debutul şi la sfârşitul tratamentului, această metodă permiţând diferenţierea între un ţesut tumoral activ sau o fibroză reziduală.

•

Tabel 29

CLASIFICAREA STADIALĂ (ANATOMO-CLINICĂ) COTSWOLDS

Stadiul I :	Implicarea unui singur grup ganglionar supra sau subdiafragmatic sau structură limfoidă (splină, timus, inel Waldayer), sau implicarea unui singur teritoriu extralimfatic (IE)
Stadiul II :	Implicarea a două sau mai multe teritorii ganglionare de aceeaşi parte a diafragmului (atunci cînd ganglionii hilari sunt implicaţi bilateral, este stadiul II); implicarea locală, prin contiguitate, a unui singur organ sau teritoriu extralimfatic de aceeaşi parte a diafragmului (IIE). Se precizează numărul teritoriilor implicate (ex. II_2, II_3,* etc...)
Stadiul III:	Implicări ganglionare de ambele părţi ale diafragmului (splina reprezintă un teritoriu ganglionar III_S) cu eventuala implicare, prin contiguitate, a unui teritoriu sau organ extralimfatic (IIIE); III1 : cu atingere abdominală superioară : splină, ganglioni hilari hepatici, celiaci, portali ; III2 : cu atingere abdominală inferioară : ganglioni para-aortici, iliaci, mezenterici
Stadiul IV :	Invadarea a unui sau a mai multor organe sau ţesuturi extralimfatice (nu prin extensie de la un ganglion de vecinătate) cu sau fără prindere ganglionară.

Fiecare stadiu se subdivide în :
A/B : absenţă/prezenţă scădere în greutate, febră, transpiraţii predominant nocturne;
a/b : absenţă/prezenţă semne biologice inflamatorii (VSH>>, alfa2-glob >>)

Notaţia **E** : marchează invadarea unui organ extralimfatic prin contiguitate de la un grup ganglionar de vecinătate.
X : marchează o masă tumorală mare (lărgirea mediastinului peste o treime din diametrul toracic, sau o masă tumorală cu diametrul maxim peste 10 cm).
CS : Stadiu clinic (*Clinical stage*)
PS : Stadiu anatomo-patologic (*Pathological stage* - după laparotomie)

* pentru stadiul II supradiafragmatic se disting 5 arii ganglionare : cervicale drept şi stâng, axilare drept şi stâng, mediastinale.

• tomografie cu emisie de pozitroni (Pet-Scan) – tehnica utilizează ca trasor fluorodeoxiglucoza marcată cu Fluor 18 (18F-FDG). Trasorul se fixează în situs-urile cu consum crescut de glucoză. Faţă de scintigrafia cu gallium, această tehnică posedă o rezoluţie spaţială superioară, contrast mai bun, cu eliminarea artefactelor intestinale. Este utilă în bilanţul de extensie pre-terapeutic şi în supraveghere. Are o fiabilitate superioară în diferenţierea leziunilor îndoielnice. Este o tehnică recentă care necesită evaluare protocolară, dar există tendinţa de a o utiliza în evaluarea răspunsului terapeutic intermediar pentru evaluarea strategiei terapeutice ulterioare.

În urma acestui bilanţ complet, se precizează stadiul bolii conform clasificării anatomo-clinice. O primă clasificare stadială s-a făcut la Rye, în 1965, apoi la Ann-Arbor, în 1971, pentru ca, în 1989, la Cotswold, să se aducă ultimile modificări (***Tabelul 29***).

PROGNOSTIC

Factorii de prognostic obţinuţi prin analiza statistică multivariată a numeroase loturi de pacienţi, în diferite centre de specialitate, joacă un rol important în adoptarea atitudinii terapeutice. În funcţie de prezenţa sau absenţa lor, se poate aprecia şansa de obţinere a

răspunsului terapeutic, de menţinere a acestuia, riscul de recădere şi, în consecinţă, se poate modula protocolul terapeutic.

Într-o primă etapă, s-a putut face o departajare între formele localizate (***stadiile I şi II***) şi cele avansate (***stadiile II şi IV***). Principalii factori de prognostic luaţi în calcul depind de forma localizată sau extinsă a bolii.

Pentru formele localizate (stadiile I-II), parametrii cu rol prognostic negativ (cu semnificaţie statistică) sunt :

- vârsta pacienţilor peste 50 ani
- numărul de arii ganglionare implicate ≥ 3
- implicarea extralimfatică prezentă
- VSH > 50 mm/1h
- masa tumorală mare prezentă
- semnele B prezente (diametru tumoral ≥10 cm sau mediastin/torace < 0,33)

În funcţie de aceşti factori, formele localizate se împart în :

a. ***Forme localizate cu prognostic favorabil*** – stadii I sau II fără factori de risc

b. ***Forme localizate cu prognostic negativ*** – stadii I sau II cu factori de risc

Pentru formele extinse (stadiile III şi IV), parametrii cu valoare prognostică independentă, demonstrată sunt :

- albumina < 4.0 g/dL
- hemoglobina < 10.5 g/dL
- sexul masculin
- vârsta ≥ 45 ani
- stadiul IV
- leucocitoză (GA ≥ 15.000/mm^3)
- limfopenie (limfocitele < 600/mm^3 în valoare absolută sau procentul de limfocite <8% din numărul de leucocite)

Pe baza acestor factori de prognostic (cu semnificaţie statistică determinată prin studii clinice şi analize statistice uni- şi multivariate), s-a stabilit un Indice Prognostic Internaţional (IPI) notat de la 0 la 7. În funcţie de indice, pacienţii cu forme extinse (avansate) se împart în :

a. ***pacienţi cu formă extinsă cu prognostic favorabil*** – IPI = 0-3, cu o supravieţuire fără progresie la 5 ani de 60-80%

b. ***pacienţi cu formă extinsă cu prognostic rezervat*** – IPI = 4-7, cu o supravieţuire fără progresie la 5 ani de 42-51% (în contextul tratamentului de primă linie utilizat în mod curent

TRATAMENT

Tratamentul bolii Hodgkin a evoluat în mod constant, mai ales în cursul anilor '60 şi '70, când au fost introduse protocoalele polichimioterapice, deja consacrate, astfel încât, în prezent, aproximativ 70 - 80% dintre pacienţi pot fi vindecaţi.

Important este faptul că pentru majoritatea stadiilor există posibilitatea de alegere între diferite atitudini terapeutice. În adoptarea atitudinii terapeutice, trebuie de reţinut noţiunile de volum tumoral şi doza terapeutică optimă, de administrat, ca şi faptul că rezistenţa primară a celulelor tumorale reprezintă un handicap major pentru toate asocierile citotoxice.

MODALITĂŢI TERAPEUTICE

• ***Radioterapia :***

- se pot utiliza mai multe modalităţi de administrare :
  - iradierea strictă a ganglionilor implicaţi (***involved fields***) ;
  - iradiere extinsă (***extended fields***) prin cuprinderea în acelaşi câmp a ariilor ganglionare atinse şi a zonelor adiacente (ţinând cont de modul de extindere a bolii);
  - iradiere supradiafragmatică - în manta ;
  - iradiere subdiafragmatică - în Y inversat +/- aria splenică ;
  - iradiere ganglionară subtotală sau totală.
- se utilizează doze totale de minimum 40 Grey, administrate în doze fracţionate de 2 Grey în cinci şedinţe săptămânale
- reprezintă tratamentul de elecţie pentru formele localizate şi ca terapie de reducere rapidă a maselor tumorale compresive
- poate vindeca majoritatea cazurilor în stadiul I şi II, şi numeroase echipe continuă să o folosească în cazurile cu prognostic favorabil, dar există tendinţa de a-i restrînge indicaţiile.

• ***Chimioterapia***:

- sunt utilizate protocoale de polichimioterapie dintre care cele mai cunoscute sunt **MOPP** (primul protocol utilizat cu succes), **ABVD** sau combinaţii între acestea (vezi **Tabel II**)
- **MOPP** reprezintă prototipul polichimioterapiilor ciclice cu rezultate bune, dar apariţia tratamentului de a doua linie **ABVD** a schimbat strategia terapeutică. Se pare că **ABVD** are o eficacitate cel puţin similară, este mai bine tolerat şi efectele secundare tardive sunt mai reduse. Astfel, **ABVD** singur, administrat de atâtea ori cât este necesar pentru a obţine remisiunea completă, plus încă două cure de consolidare, reprezintă tratamentul standard ("gold standard") al bolii, baza de comparaţie pentru toate terapiile noi
- datorită asocierii a şapte droguri diferite, cu mecanism diferit, în aceeaşi cură, protocolul hibrid **MOPP/ABV** a fost printre cele mai utilizate în formele cu prognostic rezervat
- cure de tip **VBM** (vinblastină, bleomicină, metotrexat) sau **EBVP** (epirubicin, bleomicin, vinblastin, prednison) mai recent utilizate sunt mai bine tolerate pe termen scurt, cât şi la distanţă.

Tabel 30

CURELE UZUALE UTILIZATE ÎN TRATAMENTUL BOLII HODGKIN

CURA	MEDICAMENTE	ADMINISTRARE	
4. MOPP	Mecloretină	6 mg/m^2	i.v. zi 1,8
	Vincristină	1,4 mg/m^2	i.v. zi 1,8
	Procarbazină	100 mg/m^2	p.o. zi 1-14
	Prednison	40 mg/m^2	p.o. zi 1-14
COPP	Ciclofosfamidă	650 mg/m^2	i.v. zi 1,8
	Vincristină	1,4 mg/m^2	i.v. zi 1,8
	Procarbazină	100 mg/m^2	p.o. zi 1-14
	Prednison	40 mg/m^2	p.o. zi 1-14
ABVD	Doxorubicină	25 mg/m^2	i.v. zi 1,15
	Bleomicină	10 mg	i.v. zi 1,15
	Vinblastină	6 mg/m^2 i.v.	i.v. zi 1,15
	Dacarbazin	375 mg/m^2	i.v. zi 1,15
BEACOPP	Bleomicin	10 mg/m^2	i.v. zi 8
	Etoposid	100 mg/m^2	i.v. zi 1-3
	Doxorubicină	25 mg/m^2	i.v. zi 1
	Ciclofosfamidă	650 mg/m^2	i.v. zi 1
	Vincristină	1,4 mg/m^2	i.v. zi 8
	Procarbazină	100 mg/m^2	p.o. zi 1-7
	Prednison	40 mg/m^2	p.o. zi 1-14

*** Fiecare ciclu durează 28 zile (BEACOP 21 zile)**

• ***Tratamentul combinat (chimio + radioterapie)***

Observaţia că eşecul unei radioterapii optime în obţinerea unei remisiuni de lungă durată se poate datora existenţei unor focare oculte situate în afara câmpurilor de iradiere şi că efectul citoreductor al chimioterapiei, singură, poate fi insuficient în cazurile cu masă tumorală mare, mai ales mediastinală, a condus la concluzia logică de a combina cele două modalităţi în mod secvenţial pentru a obţine rezultate superioare.

2. Evaluarea post-terapeutică: se practică în cursul (evaluare intermediară) şi la sfârşitul tratamentului (evaluare finală) pentru evaluarea răspunsului terapeutic şi constă în evaluarea tuturor teritoriilor implicate iniţial. Răspunsul terapeutic se apreciază astfel :

• ***remisiune completă*** : dispariţia tuturor semnelor clinice, biologice, radiologice ale bolii iniţiale – examenul clinic normal/examen imagistic al maselor tumorale normal/examenul medular normal

• ***remisiune completă incertă***: examen clinic normal/examen imagistic al maselor tumorale normal/status medular necunoscut sau examen clinic normal/examen imagistic al maselor tumorale - reducere cu peste 75%/ status medular normal sau necunoscut

• ***remisiune parţială***: examen clinic normal/examen imagistic al maselor tumorale normal/status medular pozitiv sau examen clinic normal/examen imagistic al maselor tumorale - reducere peste 50%/ status medular irelevant sau examen clinic cu reducerea dimensiunilor splinei/ficatului/examen imagistic al maselor tumorale - reducere volum cu peste 50%/ status medular irelevant

- *eşec terapeutic* : boala stabilă/progresia bolii/recădere

Evaluarea intermediară a răspunsului terapeutic se realizează, de obicei, la jumătatea intervalului terapeutic global, stabilit iniţial. Ea are rolul de a reevalua strategia terapeutică. În cazul obţinerii unui răspuns complet sau cel puţin parţial de peste 50%, se continuă schema terapeutică propusă iniţial. În cazul pacienţilor la care răspunsul este sub acest nivel sau absent, se va decide schimbarea schemei terapeutice (cazuri rezistente la tratament).

STRATEGIE TERAPEUTICĂ

Tabel 31

STRATEGII TERAPEUTICE

STADIUL	TRATAMENTUL
Std localizate (I - II)	
➢ prognostic bun	4 - 6 cure ABVD 2 cure ABVD + iradiere limitată (20 sau 30 GY)
➢ prognostic nefavorabil	4 - 6 cure ABVD 4 cure ABVD + iradiere limitată (20 sau 30 GY)
➢ T mediastinală mare	6 cure ABVD + iradiere 30 Gy pe masa tumorală voluminoasă 2 cure BEACOPP escaladat + 2 cure ABVD + iradiere 30 Gy
StD extinse (III-IV)	
➢ cu prognostic favorabil	- 6-8 cure ABVD - 6-8 cure ABVD + iradiere limitată în caz de tumoră voluminoasă
➢ cu prognostic nefavorabil	- 6-8 cure ABVD +/- iradiere "involved fields" - 6-8 cure BEACOPP - 6-8 cure BEACOPP intensificat
Cazuri rezistente sau recăderi	- iradiere exclusivă - chimioterapie clasică + iradiere - chimioterapie cu recoltare CSP apoi autografă
➢ recăderi ggl localizate tardive	
➢ recădere defavorabilă	- chimioterapie intensivă cu dublă autografă - allografă
➢ recădere f. defavorabilă	

Alegerea se bazează în principal pe stadiul anatomo-clinic şi factorii de prognostic. Strategia este detaliată în ***Tabelul 31.***

La trei luni de la terminarea tratamentului, se va realiza un nou bilanţ de evaluare a răspunsului terapeutic :

- răspuns complet/răspuns complet incert – supraveghere
- răspuns parţial – supraveghere şi reluare tratament în caz de reevoluţie/restadializare şi tratament imediat ca pentru cazurile rezistente sau reevoluate
- eşec terapeutic – rebiopsiere, restadializare şi terapie de a doua linie (vezi cazuri rezistente sau reevoluate)

Supravegherea post-terapeutică a pacienţilor responsivi

Pacienţii care au răspuns la terapia de primă linie trebuie supravegheaţi ulterior, dat fiind riscul recăderilor şi al complicaţiilor post-terapeutice tardive.

Pacienţii vor fi urmăriţi pe o perioadă de minimum 5 ani. Controalele vor fi trimestriale în primii doi ani, semestriale următorii doi ani, apoi anuale. Investigaţiile de efectuat :

- hemogramă, VSH, teste biochimice renale şi hepatice - trimestriale în primii doi ani, semestriale următorii doi ani, apoi anuale
- TSH - semestrial în caz de redioterapie cervicală
- radiografie toracică (CT de preferat) - la 3-6 luni în primii doi-trei ani, apoi anual
- echografii abdominale (CT de preferat) - trimestriale în primii doi ani, semestriale următorii doi ani, apoi anuale
- mamografie – de iniţiat la 5-10 ani după radioterapie supradiafragmatică şi realizată anual
- consult cardiovascular, pneumoftiziologic
- revaccinare pneumococică la 6 ani la cei splenectomizaţi
- vaccinare antigripală anuală la cei trataţi cu bleomicin şi/sau radioterapie toracică.

Tratament al formelor rezistente şi al recăderilor

După tratamentul curativ iniţial, se înregistrează 5% cazuri rezistente printre stadiile I şi II şi 10-20% cazuri printre formele diseminate (III şi IV). În plus, 25-40% din cei care au răspuns vor reevolua în următorii 10 ani, din care 80-90% în primii 2-4 ani după terminarea tratamentului.

În caz de recădere, se va recurge la rebiopsiere (pentru confirmarea recăderii şi excluderea altei proliferări), restadializare şi, eventual, examen citogenetic.

În momentul recăderii, se consideră ca factori de prognostic negativ : vârsta de peste 40 ani, prezenţa simptomelor B, prezenţa de atingeri viscerale, precocitatea recăderii (sub 1 an). Rezistenţa primară la tratament este situaţia cea mai defavorabilă.

Atitudinea terapeutică recomandabilă în caz de recăderi şi rezistenţă terapeutică este :

➢ când recăderea este strict ganglionară, cervicală sau axilară, survenind tardiv într-un teritoriu prealabil neiradiat, se poate folosi iradierea exclusivă, dar cu rezultate mediocre;

➢ când tratamentul iniţial a fost radioterapia exclusivă, se va apela la chimioterapie clasică (minimum 6 cure sau până la obţinerea remisiunii complete plus încă două cure) +/- iradierea ariilor implicate ;

➢ dacă tratamentul iniţial a fost chimioterapic, rezultatul noului tratament depinde de durata primului răspuns :

- în caz de remisiune de peste un an se poate recurge la acelaşi protocol terapeutic ca şi prima dată ;
- în caz de remisiuni sub un an sau rezistenţe terapeutice primare, se utilizează cure mai agresive, fără rezistenţă încrucişată (ABVD, MIME, CEP, DHAP), sau cure intensificate

(Ciclofosfamidă în doze mari, CBV, BEAM), asociate cu autografă de celule sușă medulare sau periferice.

* Autografa de celule sușă periferice sau medulare apare la ora actuală ca standard terapeutic pentru pacienții tineri care reevoluează precoce sau care sunt rezistenți la tratamentul de primă linie. Autografa de celule sușă hematopoietice, în condițiile ameliorării toxicității terapiei, asigură o supraviețuire superioară terapiilor agresive fără autografă și evită acumulările toxicității multiplelor chimioterapii. Autografa rămâne o obțiune terapeutică utilă în cazul pacienților cu forme refractare de boală de la prima linie terapeutică.
* Allografa de celule sușă hematopoietice nu aparține strategiei terapeutice standard în boala Hodgkin. Este încă experimentală.

COMPLICAȚII ALE TRATAMENTULUI

Complicații imediate ale tratamentului

Dacarbazina și Adriamicina sunt droguri emetizante. Datorită efectelor inhibitorii asupra monoaminoxidazei ale procarbazinei, se impune evitarea alcoolului, narcoticelor, tranchilizantelor, antihistaminicelor sau simpaticomimeticelor pe timpul curelor MOPP.

Vincristina provoacă neuropatie periferică la 70-85% din pacienți. Incidența scade la 15-20% cu Vinblastină. Alte complicații : alopecia, mucite moderate, hiperpigmentări.

În cazul iradierilor pot apărea : mucite, hipervâscozitate salivară, modificări ale gustului, reacții cutanate, alopecie zonală, oboseală, grețuri. La cei cu iradiere în manta, poate apărea semnul Lhermitte - senzație de șoc electric la flectarea gîtului.

Tabel 32

COMPLICAȚIILE TRATAMENTULUI BOLII HODGKIN

Complicații potențial fatale
• Leucemii acute • Limfoame maligne hon-hodgkiniene, forme agresive • Tumori solide • Septicemii severe
Complicații severe
• Cardite de iradiere, cardiopatii post-antracicline • Pneumonii de iradiere, fibroze pulmonare post-bleomicină • Ulcere gastro-duodenale, perforații, HDS • Neuropatii severe, pareze intestinale • Infecții oportuniste • Anomalii de creștere la copii și adolescenți • Tulburări ale funcției de reproducere • Tulburări psihologice
Complicații minore
• Hipotiroidism chimic sau clinic • Alterări pe termen lung ale funcției limfocitare post-iradiere ganglionară totală

După Bonadonna și col.

Complicații tardive ale tratamentului

Pacienții vindecați de o boală Hodgkin prezintă un risc crescut pentru complicațiile tardive, datorate toxicității terapeutice (radice și chimice) care grevează prognosticul la distanță al acestor pacienți. Complicațiile pot fi tumorale sau netumorale. Examenul necroptic a evidențiat faptul că peste 30% din pacienți decedează datorită unei complicații post-terapeutice. Urmărirea pacienților pe termen lung după obținerea primului răspuns terapeutic a evidențiat faptul că în primii 10 ani principala cauză de deces o reprezintă boala de bază, în timp ce, ulterior, cauzele sunt similare celor din populația generală, dominate însă de efectele secundare.

Complicații netumorale

- ***Infecții*** : se datorează depresiei imunitare. Mai frecvent se întâlnesc pneumonii, bacteriemii, infecții cutanate, meningite. Infecțiile pot fi bacteriene sau virale (herpes-zona).
- ***Tiroidiene*** : hipotiroidia biologică compensată apare la 50% din cei cu iradiere supradiafragmatică. Necesită uneori tratament substitutiv.
- ***Cardiovasculare*** : sunt secundare iradierilor (pericardite acute și cronice, leziuni miocardice sau coronare) și chimioterapiei, în special antraciclinele (adriamicina, farmorubicina) când depășesc doze cumulative de 550 mg/m^2. Se pot manifesta ca infarct, aritmii, miocardită, pericardită lichidiană sau constrictivă.
- ***Pulmonare***: fibroza pulmonară este o complicație frecventă la cei cu iradiere în manta (pneumonită radică, uneori severă), cu atât mai mult la cei la care se asociază chimioterapie, în special Bleomicină (fibroză pulmonară).
- ***Digestive*** : se manifestă ca infecții, ulcer, gastrită, ocluzii și perforații.
- ***Oboseală cronică*** - survine mai ales la cei cu chimioterapie și poate dura 6 – 12 luni de la terminarea tratamentului.
- ***Disfuncții reproductive*** : depind de tipul de tratament, doză, asociere, vârstă, pubertate. Curele de tip MOPP sau COPP pot induce azoospermie și atrofie testiculară cu aplazia celulelor germinale la bărbat și amenoree persistentă la 60% dintre femei. La copil și adolescent, șansa de prezervare a funcției reproductive este mai mare la fete. În acest context, se recomandă prelevarea și conservarea de spermă la cei ce doresc ulterior copii și ooforopexie la fetele cu iradiere pelvină. Nu există dovezi în favoarea creșterii anomaliilor congenitale la descendenții acestor pacienți.

Complicații tumorale

- ***Leucemiile acute/Sindroamele mielodisplazice***: la 5 ani de la tratament, riscul cumulativ pentru aceste complicații este de 1%, în timp ce incidența lor variază între 1 și 6,3% după o evoluție de 6-20 ani. Majoritatea leucemiilor acute sunt nelimfoblastice. Riscul e mai mare la cei cu chimioterapie +/- iradiere. Prognosticul acestor cazuri este extrem de rezervat.
- ***Limfoamele nehodgkiniene*** : survin la 5-15 ani de la tratament. Se datorează depresiei imunitare induse de tratament, anomaliilor cronice ale funcției imunitare din cadrul bolii, tipului histologic cu predominanță limfocitară.
- ***Tumorile solide***: a fost observată o creștere a incidenței tumorilor solide la pacienții tratați mai ales cu radioterapie sau terapie combinată. Aproape ¾ din tumori apar în teritoriul iradiat.

Tumorile cele mai frecvent semnalate sunt : pulmonare, mamare, tiroidiene, osoase, gastrice, esofagiene, uter şi col uterin, cap gât.

Toate aceste complicaţii tumorale şi netumorale sunt astăzi responsabile de un procent important de mortalitate la pacienţii cu BH. De aceea, majoritatea specialiştilor depun eforturi pentru găsirea terapiei optime care să asigure un procent mare de vindecări cu reducerea riscului complicaţiilor.

LIMFOAMELE MALIGNE NEHODGKINIENE (LMNH)

GENERALITĂŢI

- Limfoamele maligne nehodgkiniene reprezintă proliferări celulare maligne monoclonale, având ca punct de plecare ţesutul limfoid.
- Ele cuprind un ansamblu heterogen de proliferări, afectând limfocitele B şi T, cu prezentare clinică şi evolutivă spontană foarte variată, în funcţie de forma anatomopatologică.
- În Europa şi America de Nord, LMNH au o origine limfoidă B în majoritatea cazurilor (aproximativ 85% din cazuri), în timp ce, în Japonia, limfoamele T sunt mai numeroase (50%).
- Modul de manifestare cel mai frecvent, ca şi în boala Hodgkin, îl reprezintă adenopatiile periferice şi/sau profunde nedureroase (80%).
- Spre deosebire de boala Hodgkin,
  - mai multe teritorii ganglionare sunt afectate de la debut, cu implicarea mai frecventă a teritoriilor extraganglionare (care pot fi singura manifestare în unele cazuri);
  - extinderea bolii este mai puţin sistematizată decât în BH. Aceste ultime elemente sugerează o origine multicentrică (şi nu unicentrică), ca şi un mod diferit de diseminare;
  - evoluţia naturală a bolii este mai scurtă şi, în absenţa tratamentului, evoluţia este, de regulă, letală.
- Diagnosticul bolii este strict histologic.
- Tratamentul valabil la ora actuală antrenează vindecări într-o proporţie mai mică decât cea a celor cu o prelungire a duratei de supravieţuire cu o calitate a vieţii ameliorată.

EPIDEMIOLOGIE

- LMNH reprezintă, la ora actuală, cea mai frecventă hemopatie malignă.
- Incidenţa LMNH este într-o continuă creştere (cu peste 75% în ultimii 20 ani).
- Numărul de cazuri diagnosticate în fiecare an în Europa este de aproximativ 15 cazuri/100.000 locuitori/an (4% din neoplazii).
- În ultimii ani, incidenţa lor este în creştere, mai ales prin apariţia limfoamelor la pacienţii cu sindrom de imunodeficienţă dobândită (SIDA).
- S-a observat o creştere a incidenţei predominant la limfoamele foliculare, limfoamele extra-ganglionare B şi ganglionare T.
- Frecvenţa diferitelor limfoame este dependentă de vârstă şi are o distribuţie internaţională variabilă.
- Boala este mai frecventă la bărbaţi, cu o distribuţie pe sexe variabilă, între 1,5 şi 3,5/1.

ETIOLOGIE

Limfoamele au servit şi servesc ca model pentru înţelegerea neoplaziilor ca afecţiuni cu substrat genetic. Astfel, diverşi factori de mediu şi anomalii genetice congenitale pot contribui la producerea de alterări cromozomiale ireversibile. Acestea ar putea favoriza apariţia de limfoame prin intermediul modificării sau pierderii de gene cu rol esenţial în reglarea creşterii, diferenţierii (oncogene) sau morţii celulare (antioncogene). Factori asociaţi cu LMNH sunt :

Factori infecţioşi

- ***Virusul Ebstein-Barr (EBV)*** - unele cazuri de boală Hodgkin, limfomul Burkitt endemic din Africa, limfoamele legate de VIH, limfoproliferările la transplantaţi ...
- ***Virusul HIV*** nu este direct responsabil de transformarea malignă, dar favorizează apariţia limfoamelor în contextul imunodepresiei pe care o induce.
- ***Virusul HTLV-I*** - a fost regăsit la pacienţii cu leucemia/limfomul cu celule T ale adultului (ATLL), formă de boală observată mai ales în zonele endemice (Caraibe, Japonia, Africa de Vest).
- ***Virusul herpetic HHV-8*** - responsabil de sarcomul Kaposi, este asociat unor forme rare de limfom al seroaselor la imunodeprimaţi.
- ***Virusul hepatitei C*** - este implicat în fiziopatologia unelor hemopatii cronice, dar, se pare, în mod indirect (stimulare antigenică).
- Infecţia cu ***Helicobacter pylori*** este asociată cu dezvoltarea limfoamelor digestive, probabil tot printr-o stimulare antigenică prelungită.
- Infecţia cu ***Borrelia burgdorferi*** implicată în limfomul cutanat.

Factori de mediu (profesionali şi neprofesionali)

- Expunerea la ierbicide (organofosfaţi, clorofenoli), pesticide, lacuri, adezivi, diluanţi, praf de lemn, vopsele pentru păr, expunere la soare.
- Unele categorii profesionale par a avea un risc crescut precum : agricultorii, forestierii, vopsitorii, tăbăcarii.
- Factorii dietetici (laptele, carnea roşie, untul, şunca, aportul scăzut de fructe, legumele şi cerealele integrale).

Factori familiali

- Au fost semnalate agregări familiale.
- Deşi rare, s-a semnalat un risc crescut pentru limfoame de 3-4 ori la persoane cu rude cu limfoame sau alte neoplazii hematologice.

Imunodeficienţe congenitale – se pot complica în evoluţie, în proporţii variabile, cu limfoame cu diverse histologii

- ataxia telangiectazia
- sdr Wischott-Aldrich
- sindromul de imunodeficienţă combinată severă sau variabilă.

Imunodeficienţe dobândite – se pot asocia, în evoluţie, cu limfoame nehodgkiniene în

- tratamentul cu imunosupresoare
- transplantul de organe
- infecţia cu HIV
- bolile autoimune (sdr Sjogren, tiroidita Hashimoto, artrita reumatoidă, boala inflamatorie a intestinului, ş.a.).

DIAGNOSTIC

Manifestări clinice

Deşi unele manifestări clinice specifice pot fi asociate cu diferite subtipuri de limfom, două treimi dintre pacienţi se prezintă la diagnostic cu adenopatii.

LOCALIZĂRI ALE LIMFOAMELOR

Localizările ganglionare

- reprezintă localizarea principală a LMNH şi este ceva mai importantă în cazul limfoamelor de joasă malignitate, în raport cu cele agresive ;
- descoperirea fortuită sau cu ocazia unui examen sistematic a uneia sau mai multor adenopatii superficiale cu dimensiuni variabile, în general > 1 cm ;
- adenopatiile se caracterizează prin asimetrie, sunt ferme, nedureroase, mobile, fără caracter inflamator ;
- toate ariile ganglionare pot fi implicate, inclusiv inelul lui Waldayer ;
- adenopatiile profunde pot fi mediastinale, hilare, pulmonare sau abdominale, adesea latente clinic, dar uneori cu semne de compresiune pe structurile de vecinătate ;
- masele mediastinale sau abdominale voluminoase sunt frecvente în limfoamele agresive ;
- localizările splenice sunt asimilate celor ganglionare. Localizările secundare sunt semnalate la 50-60% din limfoamele de joasă malignitate şi la 20-40% din limfoamele agresive. Localizările splenice primitive reprezintă sub 1%.
- asocierea eventuală de semne generale (prezenţa lor clasează limfomul în grupa prognostică B) :
    - scădere în greutare > 10% în ultimile 6 luni ;
    - transpiraţii importante şi frecvente, predominant nocturne;
    - sindrom febril prelungit, peste 38^0 C, fără focar infecţios dovedit.

Localizările extraganglionare

- localizările extraganglionare sunt frecvent întâlnite şi pot implica aproape orice organ. Cea mai frecventă localizare extraganglionară este reprezentată de tractul gastrointestinal, piele şi os, iar aproximativ 32% dintre pacienţi prezintă infiltrare medulară. Localizările extraganglionare pot fi primitive sau în asociere cu cele ganglionare :

1. localizare medulară

- este suspectată în prezenţa unei NFS anormale cu semne de insuficienţă medulară +/- prezenţa de celule limfomatoase în sângele periferic ;
- este frecvent întâlnită în formele cu malignitate redusă (în 70% din limfoamele foliculare) şi în cele limfoblastice (50%), iar în cele difuze cu celule mari şi în cele imunoblastice de doar 20% ;
- confirmarea se face prin biopsie medulară, care este un gest obligatoriu.

2. localizare digestivă

- cea mai frecventă localizare extraganglionară este la nivelul stomacului, intestinului subţire, colonului;
- manifestările de debut pot fi nespecifice sau sugestive pentru o atingere digestivă cu : dureri abdominale, greţuri, vărsături, tulburări de tranzit, tulburări de apetit, hemoragii digestive, masă tumorală abdominală sau rectală, complicaţii de tip obstrucţie intestinală, invaginaţie sau peritonită.

3. localizare ORL

- limfoamele inelului Waldayer reprezintă a doua localizare extraganglionară, ca frecvenţă, după precedenta (5-10%);
- simptomele depind de localizare : disfagie (amigdale palatine sau linguale), tulburări nazale sau auditive (nazo-faringe) ;
- se asociază relativ frecvent cu o localizare gastrică, astfel încât descoperirea implicării inelului Waldayer impune o endoscopie gastrică ;
- alte localizări : sinusuri, craniofacială, glande salivare.

4. Localizare pleuro-pulmonară

- apare mai frecvent în formele agresive (10% din cazuri la debut);
- sunt adesea asimptomatice;
- se prezintă radiologic, frecvent ca infiltrat pulmonar de contiguitate a unei implicări ganglionare hilare sau ca atelectazii lobare sau noduli parenchimatoşi.

5. localizare hepatică

- se prezintă ca hepatomegalie omogenă cu tablou biologic adesea normal, diagnosticul fiind bioptic;
- este adesea silenţioasă, iar tehnicile de imagistică nu sunt suficient de fiabile, ele permiţând depistarea doar a leziunilor focale (noduli hipoecogeni la echo sau hipodenşi în CT).

6. localizare neuromeningeală

- este prezentă predominant în limfoamele agresive (15% din cele Burkitt) şi mai ales în cele survenite pe depresie imunitară (20%) ;
- limfoamele primitive ale SNC sunt 1-2% din tumorile cerebrale, mai frecvent la cei cu deficit imun;

- se prezintă cu manifestări de tip deficit focal, tulburări psihice, comiţialitate, semne de hipertensiune intracraniană sau atingeri ale nervilor cranieni (frecvent cu anestezie mentonieră sau paralizie oculomotorie).

7. alte localizări

osoase, uro-genitale, tiroidiene, oculare, cutanate (hematodermie), mai ales în formele T (*micozis fongoides*, sindromul Sezary).

Diagnosticul pozitiv

- Diagnosticul limfoamelor maligne se bazează, în mod fundamental, pe aspectul histologic şi citologic al biopsiei ganglionare sau al unui ţesut extraganglionar. Dezvoltarea importantă a tehnicilor de imunomarcaj şi imunohistochimie permite la ora actuală fenotiparea populaţiei tumorale, a populaţiilor reacţionale.
- Limfoamele maligne reprezintă un grup heterogen de entităţi anatomo-clinice cu individualitate morfologică, imunologică, citogenetică şi moleculară.
- Etapele de diagnostic ale unui limfom sunt :
  - ***recunoaşterea originii limfoide*** a proliferării tumorale ;
  - ***clasificarea sa*** - încadrarea sa în sistemul de clasificare utilizat (de preferinţă OMS) ;
  - ***bilanţul de extensie*** tumorală.
- Aceste elemente vor permite încadrarea precisă a entităţii respective pentru alegerea tratamentului optim.
- **Modalităţi diagnostice :**

a) Puncţie ganglionară (sau oricare altă masă tumorală)

- Evocă diagnosticul de limfom şi, eventual, tipul său.
- Permite uneori evaluarea, alături de clinică, a urgenţei diagnosticului (celule Burkitt, limfoblaşti...).
- Obţinera unei suspensii de celule va permite realizarea :
  - unui imunofenotipaj
  - unui examen citogenetic.
- **<u>Nu permite confirmarea diagnosticului</u>**

b) Biopsia ganglionară (sau a oricărei alte mase tumorale)

- **<u>Este indispensabilă diagnosticului</u>**.
- Această biopsie trebuie sa cuprindă :
  - ➢ piesa fixată pentru examenul histologic şi imunohistochimic standard.
    - se vor realiza cel puţin marcajele pan-B (CD20), pan-T (CD3) şi anti-CD45 (pentru a afirma originea hematopoietică în caz de proliferare nediferenţiată).
  - ➢ piesa nefixată ce va fi congelată pentru :
    - examenele imunohistochimice complementare
    - examenele de biologie moleculară :
      - ▲ căutarea de anomalii citogenetice (Bcl2, c-myc)

▲ căutarea de rearanjamente clonale ale Ig sau receptorului T.

- Obţinerea unei suspensii de celule prin disociere ar permite realizarea unui cariotip.
- Analiza produsului de biopsie se va face după fixare şi includere în parafină. Se va recurge la :

- ***analiza morfologică*** - examinarea princeps
- ***analiza imunofenotipică*** - permite confirmarea diagnosticului pozitiv de limfom, diferenţierea de o proliferare neoplazică non-limfomatoasă sau o hiperplazie limfoidă reacţională, căutarea caracterului monoclonal al unui sindrom limfoproliferativ, studierea expresiei unor oncogene, proteine virale sau proteine asociate cu ciclul celular, precizarea originii celulei proliferante (celule B sau T, cu subpopulaţiile lor), în funcţie de profilul antigenic obţinut.
- ***analiza citogenetică*** - permite identificarea unor anomalii citogenetice recurente şi a unor rearanjări cromozomiale neîntâmplătoare, evidenţierea unor corelaţii semnificative între anomaliile de cariotip, aspectul histologic, imunofenotipic şi evoluţia clinică.
- ***analiza de biologie moleculară*** - are drept scop studiul acizilor nucleici în cadrul fragmentelor tisulare. Utilizează mai multe tehnici : hibridarea *in situ*, *Southern blot* şi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) şi, mai nou, studiul profilului expresiei genice (*micro array*) pentru a identifica genele implicate în procesul de oncogeneză, în progresia bolii, identificarea unor profile prognostice, identificarea unor posibile ţinte terapeutice.

Clasificarea LMNH

- Coroborarea datelor obţinute prin examenele histologic, imunofenotipic, citogenetic, permite definirea fiecărui caz de limfom şi încadrarea acestuia într-un anumit tip, în contextul unui sistem de clasificare general acceptat.
- Clasificarea limfoamelor s-a perfecţionat progresiv, pe măsură ce au apărut noi clasificări.
- Clasificarea recent **OMS** a hemopatiilor limfoide ţine cont de datele clinice, morfologice, imunofenotipice şi uneori citogenetice. Ea distinge :
  - hemopatiile B de hemopatiile T/NK
  - proliferările cu celule imature de cele cu celule mature.
- Proliferările imature sunt leucemiile acute lifoblastice şi limfoamele limfoblastice.
- Proliferările cu celule mature se pot grupa în două entităţi în funcţie de evolutivitatea bolii:
  - hemopatiile indolente, anterior denumite « de joasă malignitate », se caracterizează prin agresivitate clinică scăzută, evoluţie lentă, dar şi sensibilitate mai redusă la tratament;
  - hemopatiile agresive, denumite anterior « cu grad înalt de malignitate », au o evoluţie mai rapidă, asociind semne generale, şi sunt mai sensibile la tratament;
  - frontiera între cele două grupuri este uneori imprecisă. Din această cauză aceste două grupuri nu sunt individualizate în cadrul clasificării OMS.
- Această clasificare tinde să facă corespondenţa dintre fiecare hemopatie şi echivalentul său fiziologic şi deci cu stadiul de diferenţiere al celulelor B, T şi NK căruia îi corespund.

LIMFOAME B

Reprezinta majoritatea limfoamelor non-hodgkin (85%).

***Tabel* 33**

Clasificarea OMS
Neoplazii cu celule B
I. Neoplazii cu precursori limfocitari B : Limfom/leucemie limfoblasitică B
II. Neoplazii cu celule B mature
1. Leucemia limfatică cronică/Limfomul limfocitic B
2. Leucemia prolimfocitară B
3. Limfomul limfoplasmocitic/Macroglobulinemia Waldenstrõm
4. Limfomul cu celule din manta
5. Limfomul folicular:
◆ Gradul I : cu celule mici
◆ Gradul II : mixt cu celule mici şi mari
◆ Gradul III : cu celule mari
6. Limfomul zonei marginale
◆ Extraganglionare (limfom tip MALT)
◆ Ganglionare (+/- celule monocitoide B)
◆ Splenice (limfomul cu limfocite viloase)
7. Leucemia cu tricoleucocite
8. Plasmocitomul/Mielomul multiplu
9. Limfomul difuz cu celule mari
◆ Forma mediastinală
◆ Forma intravasculară
◆ Forma seroaselor
10. Limfomul/Leucemie Burkitt şi cu celule Burkitt-like
Neoplazii cu celule T şi NK
I. Neoplazii cu limfocite T precursoare : Limfomul/Leucemie limfoblastică T
II. Limfoame cu celule T/NK periferice
➢ **Forma leucemică**
1. Leucemia prolimfocitară T
2. Leucemia limfatică T cu granulaţii azurofile
3. Leucemia cu celule NK agesivă
4. Leucemia/Limfom cu limfocite T a adultului (HTLV1+)
➢ **Forma cu localizare predominant ganglionară**
5. Limfomul T periferic (fără altă specificare)
6. Limfomul T de tip angio-imunoblastic
7. Limfomul cu celule mari anaplazice
➢ **Forme extraganglionare**
8. Limfomul T/NK de tip nazal
9. Limfomul T/NK de tip enteropatie
10. Limfomul T hepatosplenic
11. Limfomul T subcutanat de tip paniculită
12. Limfomul T cutanat
◆ micosis fungoides/sdr Sezary
◆ limfom cu celule mari anaplazice primitiv cutanat primitiv
◆ limfom blastic NK

1. Limfoame " indolente"

a) Limfomul limfocitic (tip leucemie limfatică cronică)

- Este vorba de o variantă limfomatoasă a leucemiei limfatice cronice, mai frecvente.
- Modul de prezentare clinic este tumoral (adenopatii, hepatosplenomegalie).

- Infiltrarea medulară este frecventă. Există puține sau deloc celule limfomatoase circulante.
- Fenotipul este : CD5+, CD23+, FMC7-.

b) Limfomul folicular

- Cel mai frecvent tip dintre limfoamele indolente (20-25% din limfoame).
- Modul de prezentare clinică : cel mai frecvent este difuz (adenopatii periferice și profunde generalizate, splenomegalie). Infiltrarea medulară este frecventă. Se poate asocia și o limfocitoză atipică (forma leucemizată).
- Histologie : proliferare de celule limfode din folicul (centrocite, centroblaști) cu predominanță foliculară.
- Fenotip : CD5-, CD23-, CD10+.
- Citogenetică : translocația t(14;18) în 80% din cazuri. Rearanjarea genei bcl-2 (cr. 18) conducând la o hiperexpresie a acestei gene prin apropierea cu locusul genei lanțurilor grele ale imunglobulinelor (cr. 14).
- Evoluția se face către un limfom cu grad înalt de malignitate în 75% din cazuri.

c) Limfomul cu celule din manta

- Reprezintă 5 - 8% din LMNH și apare mai ales după 50 ani.
- Sindromul tumoral este adesea difuz, cu adenopatii superficiale și profunde, splenomegalie, infiltrare medulară și sanguină. Localizările extra-ganglionare sunt frecvente, mai ales cele digestive (polipoza limfomatoidă).
- Histologie : proliferare difuză sau nodulară (rar localizată în mantaua foliculară) de celule limfoide de talie mică sau medie cu nucleu neregulat.
- Fenotip : CD5+, CD10-, CD23-.
- Citogenetică : translocația t(11 ;14) în 70% din cazuri duce la o hiperexpresie a ciclinei D1 (chr. 11).
- Evoluția este adesea inițial indolentă pentru ca, apoi, să fie rapidă sau de la început agresivă.

d) Limfoamele zonei marginale

- Limfoamele zonei marginale regrupează trei entități distincte :
    - limfoamele zonei marginale ganglionare
    - limfoamele zonei marginale splenice
    - limfoamele extraganglionare MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*).
- LMNH MALT sunt cele mai frecvente. Localizările cele mai frecvente sunt : tubul digestiv (predominant gastric), pielea, glandele salivare, anexele oculare, tiroida, plămânul. Survin într-un context al unei boli autoimune (tiroidita, sdr Goujerot-Sjögren) sau în caz de portaj al *Helicobacter pylori* (localizare digestivă).
- Fenotip : CD5-, CD10-, CD23-, IgM+
- Citogenetică : t(11;18), t(1;14) cu hiperexpresia bcl-10, trisomie 3.
- Eradicarea *Helicobacter pylori* prin tratament antibiotic și antisecretor poate permite vindecarea în unele forme de LMNH MALT.

e) Limfoamele limfoplasmocitare

– LMNH limfoplasmocitar este caracterizat printr-o proliferare limfoidă (apropiată de LLC), prezentând elemente de diferențiere plasmocitară;

– prezența unei componente monoclonale de tip IgM este frecventă și realizează tabloul de macroglobulinemie Waldenström, putând fi pe primul plan al manifestărilor clinice (hipervâscozitate, auto-imunitate).

2. Limfoame agresive

a) Limfomul difuz cu celule mari B

– Reprezintă 40% din LMNH. Sunt fie primitive, fie secundare hemopatiilor limfoide de joasă malignitate, precum LLC, limfomul folicular…

– Clinic, există un sindrom tumoral ganglionar sau extra-ganglionar care crește rapid în dimensiuni. In 1/3 din cazuri, prezentarea la diagnostic este localizată. Localizările intra-abdominale sau mediastinale sunt descoperite mai tarziu, când sunt intens tumorale și cu fenomene compresive.

– Histologie : au fost descrise numeroase subtipuri. Proliferarea este formată predominant din celule limfoide atipice.

– Fenotip : markeri B, IgM+, CD45+.

b) Limfomul Burkitt

– Limfomul Burkitt este mai frecvent la copil decât la adult.

– Există trei forme de limfom Burkitt :

* o formă endemică, în Africa ecuatorială, legată de virusul EBV. Sindromul tumoral este predominant cu localizare facială;

* o formă sporadică mai puțin asociată cu EBV. Sindromul tumoral este predominant abdominal;

* o formă care survine în contextul unei infecții HIV și în care rolul EBV este preponderent.

– O infiltrare meningee se asociază frecvent, antrenând, la debut, parestezii mentoniere.

– Histologie : celule limfoide de talie medie, cu citoplasma bazofilă, vacuolată, cu numeroase mitoze.

– Fenotip : markeri B, IgM+, CD5-, CD10+.

– Citogenetică : translocația t(8;14) frecventă, cu rearanjarea oncogenei c-myc (chr. 8).

– Prognosticul LMNH Burkitt a fost net ameliorat prin scheme terapeutice intensive. Diagnosticul precoce este important pentru succesul terapeutic.

c) Limfomul limfoblastic B

– Este un LMNH ce se dezvoltă plecând de la precursori limfoizi B. Reprezintă doar o minoritate a LMNH limfoblastice (10%) care sunt predominant de tip T.

– Survin mai ales la copil și adultul tânăr.

– Tratamentul său se apropie de tratamentul formei leucemice, LAL B, definită printr-o infiltrare medulară cu peste 20% celule blastice.

LIMFOAMELE T SI NK

• Mai puţin frecvente decât limfoamele B, limfoamele liniei T şi NK sunt, în general, mai agresive.

• Fenotipul permite identificarea apartenenţei la linia T.

1. Limfomul limfoblastic T

• Reprezintă o proliferare de precursori limfocitari T, ce survin mai ales la copil şi adultul tânăr.

• Clinic, se prezintă sub forma unei mase mediastinale, timice, adesea compresive, asociate cu adenopatii supradiafragmatice. Masa tumorală creşte rapid în volum.

• Morfologia nu permite distingerea între celulele limfomatoase şi cele din LAL T.

• Tratamentul lor este mult apropiat de cel al leucemiei acute cu celule T.

2. Limfomul T periferic

• Este cel mai frecvent dintre limfoamele T, dar grupează mai multe subtipuri de limfoame greu definite, a căror origine T este post-timică.

• Modul de manifestare clinică asociază frecvent adenopatii difuze şi semne generale.

• Fenotipul este T, mai frecvent C4 decât CD8, şi TCRαβ decât TCRγδ.

3. Limfomul T angioimunoblastic

• Este un limfom relativ agresiv, a cărui manifestare clinico-biologică asociază :

– adenopatii generalizate, o splenomegalie;

– o alterare a stării generale cu semne de evolutivitate clinică (semne B);

– rash cutanat;

– o plasmocitoză sanguină polimorfă (reacţională);

– o hipergammaglobulinemie policlonală;

– semne de autoimunitate.

• Se discută o implicare a virusului EBV.

4. Limfom anaplazic

• LMNH al copilului şi adultului tânăr care asociază adenopatii şi localizări extraganglionare frecvente, mai ales cutanate.

• Diagnosticul histologic şi imunofenotipic este adesea dificil şi uneori diagnostice diferenţiale sunt discutate : boala Hodgkin, LMNH cu celule mari B, carcinom.

• Citogenetică : o translocaţie t(2;5) este regăsită în 2/3 din cazuri şi poate ajuta la diagnostic. Ea induce o supraexpresie a ALK (*anaplastic lymphoma kinase*).

5. Limfomul/(leucemie) T a adultului (TLL)

• Limfomul T al adultului este legat de retrovirusul HTLV-I. Survine predominant la pacienţii purtători de origine japoneză, din Africa de vest şi Caraibe.

• Există 4 entităţi : acută, cronică, limfomatoasă şi indolentă.

• Prezentarea este adesea acută şi asociază :

– un sindrom tumoral : adenopatii, hepato-splenomegalie;

– leziuni cutanate, o atingere osoasă litică;

– o hiperleucocitoză cu celule limfoide cu nucleu neregulat (în treflă, în floare);

– o hipercalcemie;

– LDH crescut.

• Evoluţia formelor agresive (acute şi limfomatoase) este rapid progresivă şi defavorabilă, cu o mediană de supravieţuire de sub un an.

6. Limfoamele T epidermotrope : Mycosis fongoïde şi Sindromul Sezary

• Aceste limfoame reprezintă 70% din limfoamele cutanate.

• Sindromul Sezary corespunde formei leucemice a bolii, localizate la piele în cadrul Mycosis fongoïdes.

• Clinic, se remarcă un eritem mai mult sau mai puţin extins, putând evolua până la un tablou de eritrodermie şi adenopatii.

• In sdr Sezary, se remarcă prezenţa de limfocite atipice circulante cu nuclei convoluţi cu aspect « cerebriform ».

• Fenotip : proliferare Tβ de obicei CD4+.

• Tratamentele limfoamelor epidermotrope depind de extensia bolii:

– chimioterapii topice (caryolysine, carmustine)

– PUVA-terapie, fotochimioterapie extra-corporeală

– mono sau poli-chimioterapie sistemică în stadii avansate

– alte tratamente asociate : IFNα, retinoizi, IL-2…

Bilanţul de extensie

În prezenţa unui diagnostic pozitiv, se impune realizarea unui bilanţ complet (clinic, biologic, imagistic) de extensie a bolii, ceea ce va permite stabilirea stadiului anatomo-clinic (vezi clasificarea Ann Arbor de la boala Hodgkin) şi a factorilor prognostici ce vor influenţa atitudinea terapeutică :

- anamneza completă cu identificarea factorilor de risc pentru o eventuală infecţie cu HIV, antecedente infecţioase, boli autoimune, tratamente imunosupresoare eventuale ;
- examenul clinic cu identificarea tuturor adenopatiilor periferice, prezenţa semnelor datorate atingerilor extraganglionare, prezenţa semnelor generale;
- pentru localizările toracice, se recomandă radiografie de faţă şi profil, scanner toracic;
- pentru localizări subdiafragmatice, se recomandă echografie şi scanner abdomino-pelvin ;
- bilanţul localizărilor extraganglionare, cu indicarea unei endoscopii gastroduodenale la pacienţii cu implicarea inelului Waldayer, sau cu simptome abdominale ;
- bilanţul biologic :
  - NFS pentru căutarea unei eventuale insuficienţe medulare, trombocitopenii sau anemii autoimune, mielemii, eritromielemii ;
  - electroforeza şi imunelectroforeza pentru căutarea unei eventuale globuline monoclonale ;

- teste cutanate - posibilă anergie cutanată ;
- uricemie, uricozurie - posibil sindrom de liză ;
- funcţia renală - creatinină, ionogramă ;
- fosforemie - crescută în liză ;
- calcemie - crescută în formele HTLV1+;
- LDH, beta2 microglobulină - ca indicatori ai masei tumorale ;
- sdr inflamator - VSH, hiperfibrinogenemie, hiper alfa-2 globulinemie ;
- examenul citologic al eventualelor lichide din seroase (pleura, peritoneu);

➢ puncţia lombară la pacienţii cu limfom difuz cu celule mari, cu limfom cu celule mici neclivate ori cu limfom limfoblastic, la pacienţii cu localizări la nivelul nazofaringelui, spaţiului epidural, testicular, la pacienţii cu infecţie HIV;

➢ bilanţ viral - depistare Ac anti-HIV, HTLV-I, EBV, VHC ;

➢ bilanţ medular – mielogramă şi biopsie medulară ;

➢ bilanţ imunologic, citogenetic.

Bilanţul de extensie permite stabilirea stadiului bolii conform sistemului de stadializare Ann Arbor.

Tabel 34

STADIALIZAREA ANN ARBOR PENTRU LMNH	
Stadiul	**Extinderea**
Stadiul IA/B	Implicarea unui singur teritoriu ganglionar sau a unui singur organ sau situs extralimfatic (I_E)
Stadiul IIA/B	Implicarea a două sau mai multe teritorii ganglionare de aceeaşi parte a diafragmului sau implicarea (localizată) a unui singur organ sau situs extralimfatic (II_E) şi a unuia sau a mai multor teritorii ganglionare de aceeaşi parte a diafragmului.
Stadiul IIIA/B	Implicarea a două sau mai multe teritorii ganglionare de ambele părţi ale diafragmului care pot fi, de asemeni, însoţite de implicarea (localizată) a unui singur organ sau situs extralimfatic (III_E) sau a splinei (III_S) sau a ambelor (III_{SE}).
Stadiul IVA/B	Implicarea a unuia sau a mai multor organe sau situs-uri extralimfatice cu sau fără implicarea ganglionară (difuză sau diseminată) asociată.
Simptomele B : febră > 38°C, transpiraţii nocturne sau vesperale, şi/sau pierdere în greutate >10% din greutatea corpului ultimile 6 luni	

Diagnosticul diferenţial

- poliadenopatiile reacţionale - toxoplasmoză, mononucleoză infecţioasă ;
- boala Hodgkin - adesea debutul este prin adenopatie izolată, aspectul anatomo-patologic este tipic ;
- sarcoidoza ganglionară ;
- metastazele de carcinom nediferenţiat ;
- alte patologii limfoide : LLC, leucemia cu tricoleucocite ;
- febra neexplicată - boli infecţioase (bruceloză, endocardită infecţioasă, etc...), colagenoze.

Tabel 35

DIAGNOSTICUL DIFERENŢIAL ÎNTRE BH ŞI LMNH	
Boala Hodgkin (BH)	**Limfoamele non-Hodgkin (LMNH)**
1. Debut adesea unicentric	1. Debut adesea multicentric
2. Extindere ordonată, din aproape în aproape	2. Extindere aparent haotică
3. Implicare predominantă a grupelor ganglionare centrale sau axiale	3. Implicare mai frecventă a grupelor ganglionare periferice
4. Ganglionii mezenterici şi inelul Waldayer sunt rar implicaţi	4. Ganglionii mezenterici şi inelul Waldayer sunt adesea implicaţi
5. Afectările extra-ganglionare sunt rare	5. Afectările extraganglionare sunt mai frecvente

Forme clinice

Limfoamele sunt un grup heterogen în plan clinico-evolutiv şi anatomo-patologic, ceea ce poate ridica adesea serioase probleme clinicianului în adoptarea unei atitudini terapeutice corespunzătoare. Recunoscând această dificultate, clasificarea Working Formulation a încercat să simplifice lucrurile, creând o grupare a limfoamelor pe criterii clinico-biologice şi mai ales prognostice, în trei mari categorii : limfoame de joasă malignitate, limfoame cu malignitate intermediară şi înaltă. Deşi este o clasificare imperfectă, care grupează entităţi separate şi nu ţine seama de imunofenotipaj, această grupare merită a fi reţinută.

Limfoame cu malignitate redusă

- Reprezintă 25-40% din limfoamele maligne. Sub aspect histologic, cuprind limfomul limfocitic, limfomul limfoplasmocitic, limfo-plasmocitoid, limfoamele foliculare, limfomul marginal, limfomul cu celule din manta.
- Survin aproape exclusiv la adult, cu o vârstă medie, la diagnostic, de 55 ani. Apare mai frecvent la bărbaţi.
- Se manifestă prin adenopatii periferice, adesea generalizate. La unii pacienţi prezenţa de adenopatii care apar şi dispar poate precede cu câţiva ani diagnosticul. Semnele generale apar la 25% din pacienţi.
- Celula B normală corespondentă fiind circulantă, celula limfomatoasă de joasă malignitate circulă adesea, astfel, aproximativ 70% din pacienţi sunt în stadiul III, IV în momentul diagnosticului. Majoritatea pacienţilor au infiltrare medulară. Explorarea măduvei este obligatorie în bilanţul de extensie. Implicarea altor organe extralimfatice este mai rară.
- Evoluţia bolii este indolentă, putându-se etala pe mai mulţi ani (mediana de supravieţuire este de 7-8 ani). Au fost semnalate cazuri de regresie spontană, posibilitate ce pare legată de numărul de celule T normale, prezente la nivelul tumorii.
- Moartea survine adesea datorită bolii, fie prin înlocuirea ţesutului hematopoietic sau limfoid normal, fie printr-o transformare într-un limfom agresiv, rezistent la tratament. Posibilitatea transformării trebuie să fie sugerată de creşterea de volum a unei adenopatii, de apariţia de simptome de evolutivitate, apariţia de localizări rare ca SNC, os, testicul. În aceste situaţii, se impune o nouă biopsie ganglionară pentru reevaluare.
- Răspunsul terapeutic este relativ modest, neobţinându-se, în general, vindecări.

Limfoame agresive, cu malignitate intermediară şi crescută

- Acest grup cuprinde limfoame cu malignitate intermediară (folicular cu celule mari, difuze mixte, difuze cu celule mici) şi cu malignitate crescută (imunoblastic, limfoblastic, Burkitt). Aproximativ 80% sunt de origine B, iar restul T.
- Peste 50% din limfoame sunt difuze cu celule mari sau imunoblastice. Sub aspect citologic, celulele limfomatoase au frecvent aspect atipic sau anaplazic.
- Mediana vârstei la diagnosic este de 57 ani, dar cu limite de vârstă mult mai largi. Astfel, limfomul limfoblastic şi Burkitt apar adesea înainte de 30 ani.
- Celulele limfoide normale, corespondente celulelor neoplazice, nu circulă, astfel adesea, pacienţii (15-20%) se prezintă la diagnostic cu o formă localizată.
- Localizările extralimfatice primitive sau asociate cu cele limfatice sunt mai frecvente. Ca localizări extralimfatice, toate organele pot fi implicate, dar, cu predilecţie, sfera digestivă, ORL, os, SNC (impunând bilanţ şi profilaxie sau tratament, după caz). Unele forme (limfoblastice) invadează frecvent măduva osoasă (50%) cu fenomene de insuficienţă medulară. Adesea, semnele generale sunt prezente.
- Sunt rapid evolutive, cu deces în scurt timp, în absenţa tratamentului, dar sub un tratament intensiv au un răspuns terapeutic şi potenţial curativ superior precedentelor.

FACTORI DE PROGNOSTIC

Tratamentul pacienţilor cu LMNH este o sarcină complexă şi dificilă. Peste 30 de tipuri diferite de LMNH sunt recunoscute de clasificarea OMS şi, în plus, există o mare heterogenitate în cadrul fiecărui subtip. Progresele continue realizate de către biologia moleculară permit ameliorări în clasificarea limfoamelor, cu recunoaşterea de noi entităţi şi omogenizarea subtipurilor.Totuşi, la momentul actual, clinicienii sunt confruntaţi cu provocarea de a trata pacienţi care se presupune că au diagnostice similare, dar manifestări clinice diferite şi cu un profil molecular şi evolutiv diferit.

Tabel 36

FACTORI PROGNOSTICI ÎN LMNH	
Parametrii tumorali	Stadiul (I/II vs III/IV) Masa tumorală (<10 cm vs >10 cm) Numărul situs-urilor extralimfatice (<2 vs >2) Implicarea măduvei hematopoietice Histologia (forme agresive vs indolente) Linia celulară (B vs T) Indexul proliferant (Ki-67) Cariotipul (prezenţa anomaliilor cromosomiale) Genotipul
Parametrii biologici	Lactat Dehidrogenaza (LDH) Beta2-Microglobulina (β - 2M) Nivelul seric al receptorului pentru Interleukina-2 Nivelul seric al Tumor necrosis factor (TNF)
Parametrii pacientului	Vârsta (<60 vs >60 ani) Simptomele B Status-ul performant (ECOG : 0 - 1 vs 2 - 4) Hipoalbuminemia (< 35 g/l)
Parametrii terapeutici	Numărul de cure pentru obţinerea remisiunii complete (≤5 vs >5)

Factorii de prognostic ajută în predicţia evoluţiei cazului şi a răspunsului terapeutic, permiţând o alegere adaptată a strategiei terapeutice. Identificarea lor este esenţială. Factorii de prognostic identificaţi de diferite studii sunt prezentaţi în ***Tabelul XXXVI)***.

Tabel 37

INDICELE INTERNAŢIONAL DE PROGNOSTIC (IIP)	
Factorul de prognostic	**Grupe valorice**
Vârsta	< 60 ani / >= 60 ani
Statusul general (ECOG)	0 - 1 /> 1
LDH	Normal / crescut
Localizările extralimfatice	0 - 1 > 1
Stadiul anatomoclinic	I - II / III - IV
CATEGORII PROGNOSTICE	
Grupul de risc	**Numărul de factori prezenţi**
Scăzut	0 - 1
Intermediar - scăzut	2
Intermediar - crescut	3
Crescut	4 - 5

Protocoalele terapeutice recente ţin cont de un indice prognostic simplu elaborat pe baza câtorva date clinico-biologice : vârsta (sub 60 ani/60-69 ani/peste 70 ani), stadiul (I,II/III,IV), statusul general conform ECOG (0,1/>=2, vezi **Tabelul XXXVII**), LDH (normal/superior normalului). Pe baza acestora, s-a creat un Index Internaţional de Prognostic (IIP) care a condus la crearea grupelor de prognostic pentru recomandarea terapeutică. Pe baza IIP au fost identificate patru grupuri cu evoluţie diferită şi o supravieţuire globală la 5 ani variind de la 26% la 73%.

Tabel 38

STATUSUL GENERAL (ECOG)	
Gradul	**Definirea**
0	Capabil să depună o activitate normală , fără restricţii
1	Activitate fizică limitată, dar pacientul poate depune o activitate moderată
2	Pacientul se află în ambulator, capabil să-şi poarte de grijă dar nu poate lucra; se mobilizează peste 50% din timpul cât este treaz
3	Pacientul se poate ocupa de sine în mod limitat ; peste 50% din timpul cât este treaz îl petrece în pat
4	Incapabil să-şi poarte de grijă; în permanenţă imobilizat în pat sau scaun

TRATAMENT

În ultimii ani, au fost realizate importante progrese în terapia pacienţilor cu LMNH. Strategia terapeutică variază de la caz la caz şi trebuie nuanţată în funcţie de diverşi factori, incluzând subtipul histologic al limfomului, stadiul de extensie a acestuia, vârsta pacientului, statusul performant, şi de alţi factori de prognostic. Prezenţa unor complicaţii acute precum fenomenele de compresie medulară sau de venă cavă superioară, hipercalcemie, s.a. pot

determina atitudinea terapeutică inițială. Oricum, terapia limfoamelor impune o colaborare multidisciplinară cu participarea chirurgilor, hemato-oncologilor, radioterapeuților.

Obiectivul principal al tratamentului este obținerea remisiunii complete, definite ca dispariția oricărui semn de boală din toate teritoriile implicate în momentul diagnosticului. Odată cu obținerea răspunsului terapeutic complet, tratamentul de întreținere a răspunsului nu prezintă nici un interes în cazul limfoamelor (spre deosebire de leucemii). Dar cum remisiunea completă nu înseamnă vindecare, se impune o supraveghere a acestor pacienți, de până la 5 ani de la tratament, prin controale periodice la intervale ce cresc progresiv.

A. Mijloace terapeutice

• ***Monochimioterapie*** :

- Clorambucil (Leukeran, agent alkilant), poate fi utilizat în unele forme de limfoame indolente.

• ***Polichimioterapie*** :

- Chimioterapia de referință de peste 20 ani este asocierea CHOP (ciclofosfamida, doxorubicină, Oncovin (vincristină) și prednison).
- Administrarea se face în 4 zile, la interval de 21-28 zile.
- Alte asocieri au fost utilizate cu rezultate variabile.
- In cazul limfoamelor agresive, mai ales cu localizare ORL și la cei imunodeprimați, trebuie realizată o terapie profilactică a recăderilor în SNC prin injecții intratecale cu citostatice (metotrexat, cytosar, dexmetazona).

• ***Radioterapie*** :

- Radioterapia este utilizată complementar chimioterapiei, mai rar ca monoterapie.
- Vizează toate zonele implicate ("involved field").
- Pentru pacienții cu invadare SNC, la chimioterapie se poate asocia o radioterapie encefalică până la C2.

• ***Imunoterapie*** :

– Interferon-alfa este utilizat în complement la polichimioterapie în LMNH foliculare.

–Anticorpii monoclonali de tip anti-CD20 (rituximab-Mabthera, ofatumumab, obinotuzumab) sunt utilizați ca terapie de primă linie, fie singuri, fie în combinații cu chimioterapia. Sunt indicați și ca tratament de întreținere a răspunsului în limfoamele de joasă malignitate.

• ***Autografa de celule sușă hematopoietice*** :

- Este o chimioterapie (+/- radioterapie corporală totală) intensivă, cu reinjectarea de celule sușă hematopoietice proprii, pentru a asigura reluarea hematopoiezei.
- Este evaluată în complement la chimioterapie, la recăderea bolii.

• ***Allografa de celule sușă hematopoietice***

- Indicații rare la subiectul tânăr în recădere.

B. Indicații terapeutice

1.Tratamentul limfoamelor de joasă malignitate (limfoamele foliculare gradul I și II)

1.1. Stadiile localizate (I și II) – sunt rare

Opțiuni terapeutice :

1. ***Radioterapie pe teritorii implicate*** - este indicată în formele localizate (I și II) fără masă tumorală mare.
2. ***Supraveghere periodică cu abținere terapeutică*** până în momentul în care apar semne de evolutivitate a bolii.
3. ***Chimioterapie cu radioterapie*** - se recomandă utilizarea de cure de tip CVP sau CHOP.
4. ***Rituximab*** - anticorp monoclonal anti-CD20, fie singur, fie în combinații cu chimioterapia.
5. Alte terapii utilizate în stadii avansate.

1.2. Stadiile extinse (III și IV)

Opțiuni terapeutice :

1. ***Abținere terapeutică cu supraveghere*** - pentru cazurile puțin simtomatice sau cu puțini factori de prognostic negativ, se recomandă abținerea terapeutică.

În cazul asocierii de factori de prognostic negativ, se recomandă adoptarea unei atitudini terapeutice care poate cuprinde :

2. ***agenți alkilanți*** (cu sau fară corticoizi) - monoterapia cu Clorambucil (Leukeran) sau Ciclofosfamidă a fost larg utilizată în limfoamele indolente în stadii avansate.
3. ***polichimioterapie :*** cure de tip CVP, CHOP.
4. ***analogi nucleozidici purinici***: Fludarabină, 2-chlorodeoxyadenosină sau regimuri pe bază de Fludarabină cu antracicline (Mitoxantronă ± dexametazonă - FM+/-D - sau Idarubicin - FI) sau ciclofosfamidă (FC), toate au fost capabile să inducă rate crescute ale răspunsului global și o ameliorare a supraviețuirii.
5. ***rituximab*** - poate fi indicat în prima intenție. El poate fi administrat în monoterapie sau în asociere cu chimioterapice (R-CVP, R-CHOP, R-F, R-FM, R-FCM). La ora actuală, terapia de elecție este rituximab în monoterapie sau asociere. Asocierea optimă rămâne de stabilit.
6. ***radio-imunoterapie*** - presupune utilizarea unui anticorp monoclonal, de preferință anti-CD20, cuplat cu un izotop radioactiv. Ibritumomab tiuxetan cuplat cu Yttrium-90 și Tositumomab cuplat cu iodine-131 sunt disponibili pentru pacienții netratați sau cei recăzuți cu implicare medulară minimă (<25%) sau absentă.

7. ***terapie intensivă*** cu chimioterapie, cu sau fără iradiere corporală totală sau radioimunoterapie în doze mari, urmate de grefa de celule stem - este în studiu.

8. ***radioterapie*** pe câmpuri extinse (numai în stadiul III). Radioterapia singură (iradiere ganglionară totală) poate fi utilizată în stadiile III fără factori de prognostic negativ sau în asociere cu chimioterapia.

Atitudinea după terapia de primă linie depinde de răspuns :

- pacienţii cu răspuns complet - terapia de întreţinere cu chimioterapie sau Interferon nu este recomandată. Utilizarea Rituximab ca terapie de intreţinere, însă, trebuie luată în considerare ca investigaţională (protocoale în curs).
- pacienţii cu răspuns parţial - pot fi consideraţi ca eligibili pentru terapia de consolidare cu una din opţiuni : rituximab, autografă de celule stem hematopoietice, radioimunoterapie (tositumomab sau ibritumomab).
- pacienţii fără răspuns terapeutic - trebuie să primească alt tratament în cazul în care boala este evolutivă (simptomatici, afectare organică severă, citopenie secundară infiltraţiei medulare, masă tumorală voluminoasă sau o progresie constantă pe ultimile 6 luni).
- cei care nu răspund la chimioterapia iniţială cu agenţi alkilanţi → tratament cu antracicline sau fludarabină plus rituximab.
- cei care nu răspund la un tratament de primă linie cu antraciclină sau fludarabină → chimioterapie în doze mari cu grefa de celule stem (auto sau allografă); dacă grefa nu este realizabilă, se recomandă ca aceşti pacienţi să primească radioimunoterapie (tositumomab sau ibritumomab).

2. Tratamentul limfoamelor cu malignitate intermediară şi înaltă (agresive)

Acest grup include limfoamele folicular cu celule mari, difuz cu celule mici clivate, difuz mixt şi difuz cu celule mari (malignitate intermediară), imunoblastic, limfoblastic, Burkitt şi Burkitt-like (malignitate înaltă). În alegerea strategiei terapeutice se ţine seama de IIP.

2.1. Stadiile localizate (I şi II)

Opţiuni terapeutice :

1. ***radioterapie singură*** - este indicată în formele strict localizate (I), cu masă tumorală mică (sub 5 cm diametrul) şi fără factori de prognostic negativ.

2. ***chimioterapie cuplată cu rituximab*** – reprezintă tratamentul standard pentru restul cazurilor. Se asociază sau nu cu radioterapie (iradierea ariilor ganglionare implicate). Numărul de cure optim nu a fost determinat prin studii randomizate, el variază între 4 şi 8 cicluri.

3. ***chimioterapie singură*** - este indicată pentru formele cu factori de prognostic negativ. Se poate apela la chimioterapia de primă generaţie (tip CHOP) sau de a doua-treia generaţie (tip ACVBP sau mBACOD), 6-8 cure, cu eventuala asociere a iradierii, în caz de masă tumorală voluminoasă la diagnostic sau reziduală, postchimioterapie.

2.2. Stadiile avansate (III si IV)

Tratamentul de elecţie pentru pacienţii cu limfom agresiv în stadii avansate este polichimioterapia asociată sau nu cu radioterapia pe teritorii implicate limfomatos. La aceşti pacienţi cu potenţial curativ, vindecarea trebuie să fie obiectivul principal al terapiei de primă intenţie. Astfel, trebuie propus un tratament optim cu administrarea medicamentelor în doze curative. Dozele optime recomandate, ca şi intervalul optim între cure trebuie respectate (noţiunea doză-intensitate = cantitatea de medicament administrată în unitatea de timp exprimată în mg/m^2/săptămână). În caz contrar, eficacitatea tratamentului scade.

1. ***Protocol de primă generaţie*** - prima asociere cu intenţie curativă propusă în limfoamele agresive a fost CHOP, care a rămas tratamentul standard, de referinţă pentru toate generaţiile noi de chimioterapie. Administrarea a 6-8 cure tip CHOP a determinat remisiunea completă în 50-70% cazuri.

2. ***Protocoale de a doua generaţie*** - prin creşterea dozelor unora din agenţi, asocierea mai multor agenţi fără rezistenţă încrucişată, dintre care unele fără toxicitate medulară (bleomicina şi metotrexat). Au apărut protocoalele ***m-BACOD, ProMACE-MOPP, COPBLAM,*** care au antrenat 70-76% remisiuni complete.

3. ***Protocoale de a treia generaţie*** de tip ***ACVBP, MACOP-B, COPBLAM III şi IV, ProMACE-CytaBOM*** - au fost create în scopul intensificării tratamentului şi scurtării duratei acestuia. Sunt tratamente complexe, cu toxicitate crescută, mai ales hematologică, antrenând aplazii de scurtă durată, complicaţii infecţioase, mucite. Determină peste 80% remisiuni complete.

4. Combinaţia rituximab şi CHOP (R-CHOP) a arătat o ameliorare în supravieţuirea fără evenimente (EFS) şi cea globală în studii comparative la pacienţi în stadii avansate. Aceste studii au stabilit R-CHOP ca terapie standard de primă intenţie la pacienţii nou diagnosticaţi cu LMNH difuz cu celulă mare.

5. Grefa medulară ca metodă terapeutică în limfoamele agresive cu prognostic rezervat rămâne a fi definită de studiile în lucru.

Supravegherea post-terapeutică

Pacienţii care au obţinut o remisiune completă trebuie supravegheaţi prin vizite periodice care încep la 3 luni de la evaluarea post-terapeutică, repetate la 3 luni, în primele 24 luni, apoi la 6 luni în următoarele 36 luni :

- anamneza şi examenul clinic - la fiecare 3 luni în primii doi ani şi la fiecare 6 luni în urmatorii 3 ani, apoi anual, mai ales pentru depistarea tumorilor secundare ;
- hemograma şi LDH la 3, 6, 12, şi 24 luni, apoi numai când este nevoie pentru evaluarea unor simptome care ridică suspiciuni la pacienţii cu potenţial terapeutic ;
- evaluarea disfuncţiei tiroidiene (TSH) la pacienţii cu iradiere cervicală la 1, 2, şi cel puţin la 5 ani;

- după ce au primit iradiere toracică, pacientele la vârstă premenopauzală, în special sub 25 ani, trebuie scrinate pentru cancer secundar de sân, clinic, iar, după 40-50 ani, şi prin mamografie;
- examenele radiologice minime, adecvate la 6, 12, şi 24 luni de la terminarea tratamentului prin CT în teritoriile prinse iniţial.

Tratamentul recăderilor

În funcţie de răspunsul terapeutic, distingem trei categorii de pacienţi care vor avea nevoie de un tratament de a doua linie : cei refractari la tratamentul de primă linie, cei cu răspuns parţial la acesta şi cei care reevoluează după un interval variabil de timp de remisiune completă.

Factorii de prognostic la aceşti pacienţi sunt de trei ordine :

- unii similari celor din momentul diagnosticului - legaţi de tumoră sau de pacient
- legaţi de răspunsul iniţial la tratament : complet, parţial, eşec, şi de durata acestuia
- legaţi de răspunsul la tratament în caz de recădere.

Aceşti pacienţi vor trece la o terapie de a doua linie, mai agresivă, depinzând de terapia de primă linie şi de durata primului răspuns. Terapiile pot include şi indicaţia de auto sau allotransplant.

Tratamentul anumitor localizări particulare

Unele forma de LMNH necesită un abord specific :

- limfoamele cerebrale, oculare – necesită utilizarea de chimioterapice care trec bariera hemato-encefalică : metotrexat, aracitină;
- LMNH la pacienţi HIV+ - au toleranţa scăzută la chimioterapie
- LMNH MALT - se recomandă asocierea terapiei de eradicare *H. pylori* ce poate facilita remisiunea
- LMNH epidermotrope - terapie topică, PUVA-terapie...

LEUCEMIA LIMFATICĂ CRONICĂ (LLC)

GENERALITĂŢI

- Leucemia limfatică cronică este un sindrom limfoproliferativ cronic caracterizat prin proliferarea clonală şi acumularea de limfocite cu aspect morfologic relativ matur, dar cu funcţie imatură.
- Iniţial, acestea sunt prezente în măduva osoasă şi sânge, pentru ca, ulterior, prin progresia bolii, să se acumuleze în ganglioni, splină, ficat şi alte organe, determinând mărirea de volum a organelor respective.
- Diagnosticul se bazează pe imunofenotiparea limfocitelor din sângele periferic, permiţând, în acelaşi timp, eliminarea celorlalte hemopatii limfoide leucemizate cu care trebuie făcut diagnosticul diferenţial.
- In aproximativ 50% din cazuri, atitudinea terapeutică se bazează, iniţial, pe o simplă supraveghere activă.

EPIDEMIOLOGIE

- Este forma cea mai frecventă de leucemie la adult, reprezentând aproximativ 30% din leucemiile din ţările occidentale.
- Apare predominant la persoanele de peste 50-55 ani, fiind rară înainte de 40 ani (doar 10% din cazuri).
- Incidenţa bolii depinde de grupul de vârstă, crescând de la 5,2 la 30,4 cazuri la 100.000 de persoane între 50 şi respectiv 80 ani.
- Repartiţia pe sexe evidenţiază o predominanţă masculină (sex ratio variază între 1,4/1 şi 3,2/1).

ETIOLOGIE

Etiologia LLC rămâne o necunoscută. Au fost semnalaţi o serie de factori ce par a se asocia mai frecvent cu o incidenţă crescută a bolii, fără a fi demonstrată o corelaţie fermă :

- expunerea la unele produse chimice utilizate în agricultură (insecticide, ierbicide, fertilizatori);
- expunerea la agenţi fizici – nu sunt argumente clare în favoarea expunerii la radiaţii ionizante sau la câmpul electromagnetic ca factor favorizant în apariţia LLC;
- expunerea la agenţi chimici în mediul industrial - benzen, sulfură de carbon, tetraclorură de carbon, xilen, ş.a. ;
- factori de mediu - unele studii au evidenţiat un risc crescut la fumători şi la cei care utilizează anumite produse cosmetice ;
- asociere cu anumite infecţii virale în care agenţii patogeni sunt HTLV-I şi II (*human T-cell leukemia virus*), virusul Ebstein Barr.

PATOGENIE

- Celulele leucemice din LLC sunt caracterizate printr-un fenotip distinct, absenţa tipică de răspuns la stimulii exogeni, absenţa unei proliferări măsurabile şi un proces de apoptoză deficitar.
- În 95% din cazuri, limfocitul proliferant este de tip B. Mai puţin de 5% din cazurile de LLC au fenotip T. Celulele B leucemice au trei trăsături fenotipice principale :
  - expresia de antigene pan-B : **CD19**, **CD20**, **CD21**, **CD24**, asociind un antigen pan-T – **CD5**, fără alte antigene pan-T, şi **CD23** ;
  - imunoglobuline membranare în cantitate redusă, cu acelaşi tip de lanţ uşor (kappa sau lambda) şi greu, în special **M +/- D** (conferind caracterul de monoclonalitate al proliferării) ;
  - expresia **CD79b (BCR)**, **CD20**şi **CD22** cu densitate scăzută.
- Acumularea de limfocite în măduvă, sânge şi organele limfoide secundare se datorează în special unui defect al apoptozei în aceste celule, mai degrabă decât unui exces proliferativ. Acest fapt explică evoluţia lentă a bolii.
- Analiza citogenetică a pus în evidenţă anomalii recurente de tipul : deleţii 17p, 13q, 11q ; trisomia 12... Deşi prezenţa unora dintre aceste anomalii are valoare prognostică pentru caz, căutarea lor nu face, încă, parte din bilanţul standard (dificultăţi tehnice, influenţa minimă asupra strategiei terapeutice).

DIAGNOSTIC POZITIV

1. Manifestări clinice

- aproximativ 25% din pacienţi sunt asimptomatici în momentul diagnosticului, acesta fiind fortuit, ocazionat de un consult pentru altă patologie sau un control periodic, de rutină ;
- simptomele ce pot marca debutul şi evoluţia sunt : astenie, fatigabilitate, diminuarea apetitului, scădere în greutate, febră (rar), transpiraţii ;
- adesea se remarcă prezenţa unei ***poliadenopatii superficiale*** cu ganglioni diseminaţi, simetrici, cu diametrul de 1-2 cm, elastici, mobili, nedureroşi ;
- ***splenomegalie*** moderată (în 90% din cazuri polul inferior coboară la mai puţin de 10 cm sub rebordul costal) ;
- ***hepatomegalie*** (50%), hipertrofie amigdaliană (77%) ;
- eventual, sunt prezente ***adenopatii profunde*** mediastinale şi retroperitoneale, de obicei nedureroase şi necompresive ;
- uneori sunt semnalate infiltraţii organice limfocitare, infiltraţii cutanate (predominant în formele T).

2. Investigaţii paraclinice

a. Hemograma evidenţiază:

- hiperleucocitoză cu hiperlimfocitoză persistente la examene repetate. Limfocitele în valoare absolută sunt de peste 5.000 – 10.000/mm^3, de obicei între 30.000 şi 100.000/mm^3. Adesea, limfocitele leucemice au aspect morfologic similar limfocitelor mature.
- restul formulei este normal sau poate asocia anomalii de tipul: anemie normocromă, normocitară, trombocitopenie (ambele produse prin insuficienţă medulară, sechestrare splenică sau datorită fenomenelor autoimune care complică evoluţia bolii), neutropenie ;

b. Imunofenotiparea limfocitelor circulante – prin citometrie în flux

- elementul esenţial pentru diagnosticul pozitiv - demonstrează tipul celular şi caracterul monoclonal al proliferatului:
- pozitivitatea markerilor B : CD19, CD20, CD22
- expresia CD5 (marker pan-T, prezent pe o subpopulaţie mică de celule B)
- expresia IgM de suprafaţă mai scăzută faţă de limfocitele B normale
- caracterul de clonalitate : pozitivitatea lanţurilor uşoare de tip Ig γ sau κ
- pozitivitatea CD23 şi negativitate CD10

c. Mielograma şi biopsia medulară - nu sunt absolut necesare pentru diagnostic.

- Mielograma confirmă diagnosticul, prin evidenţierea unei infiltraţii medulare limfocitare ce depăşeşte 30% din celularitate. Infiltratul medular cât şi periferic este realizat de limfocite cu aspect matur, mici, cu nucleu hipercrom, cu cromatină densă, fără nucleoli, cu citoplasmă bazofilă, limitată la o bandă îngustă în jurul nucleului. Infiltratul medular creşte cu stadiul bolii.
- Biopsia medulară este utilă în demonstrarea tipului histologic de infiltraţie medulară - cu valoare prognostică : ***interstiţială***, ***difuză*** (prognostic rezervat) sau ***nodulară*** (prognostic bun).

d. Biopsia ganglionară

- Nu este necesară pentru diagnostic, aspectul histologic fiind cel al unui limfom malign nehodgkinian, subtipul limfocitic din clasificarea Working Formulation.
- Poate fi necesară în momentul în care se suspicionează transformarea într-un limfom agresiv.

e. Tulburări imunologice - sunt frecvent associate cu :

- hipogamaglobulinemie (30-70% din cazuri), corelată cu masa tumorală ;
- imunitate celulară perturbată, cu incapacitatea de imunizare la noi antigene ;
- prezenţă a unei imunoglobuline monoclonale (10% din cazuri), predominant de tip IgM, fără a atinge amploarea celor din gammapatiile monoclonale ;
- anemie hemolitică autoimună ;
- trombocitopenie autoimună ;
- prezenţă de auto-anticorpi : anti-eritrocitari, anti-trombocitari, factor reumatoid, Ac antinucleari, Ac antitiroidieni etc...
- anomalii cantitative şi calitative ale celulelor B, T şi NK normale.

f. Anomalii citogenetice

- Studiile citogenetice clasice detectează anomalii cromozomiale clonale doar în 40-50% din cazurile studiate.
- Tehnicile de biologie moleculară (FISH - fluorescence in-situ hybridisation, Southern blot, şi PCR-polimerase chain reaction) pun în evidenţă anomalii clonale în 80% din cazuri.
- Anomaliile semnalate sunt :
  - ***trisomia 12*** (10 – 20% cazuri)
  - ***deleţia 13q14*** (peste 50% din cazuri)
  - ***12q+***
  - ***deleţiile 11q22-23***
  - ***deleţia 6q-*** (7%)
  - ***deleţia 17p13***, alături de care se semnalează şi 14q+ (14q32).
- Anomaliile citogenetice sunt depistate rar în clona leucemică precoce, ele apar adesea odată cu progresia bolii.

g. Alte investigaţii

- Electroforeza proteinelor serice
  - hipogamaglobulinemie
  - imunoglobulină monoclonală (10% din cazuri) : IgM, uneori IgG, rar IgA.
- Test Coombs direct :
  - căutarea unei anemii hemolitice autoimune (complicaţie)
  - testul poate fi pozitiv fără să se însoţească de anemie sau hemoliză.
- LDH şi uricemie (reflectă încărcătura tumorală)
- Bilanţul imagistic (scaner, echografie abdominală) nu se realizează sistematic.

Tabel 39

Parametrul diagnostic	**NCI**	**IWCLL**
Limfocite (x10^6/l)	**5; > 1 cel B (CD19, CD20, CD21, CD23) + CD5**	> 10 + fenotip B sau implicare medulară < 10 + ambele de mai sus
Celule atipice (%)	< 55	Nespecificat
Durata limfocitozei	Nespecificată	Nespecificată
Limfocitoza medulară (%)	> 30	> 30
Stadializarea	**Rai modificată / Binet**	**IWCLL**

3. Diagnosticul pozitiv

Grupul de lucru internaţional pentru studiul LLC (IWCLL) şi Grupul de lucru al *National Cancer Institute* (NCI) au făcut recomandări în ceea ce priveşte criteriile de diagnostic şi evaluarea răspunsului terapeutic, precum şi indicaţii terapeutice. Criteriile recomandate de cele două grupuri diferă neesenţial.

DIAGNOSTIC DIFERENŢIAL

Pentru marea majoritate a pacienţilor, diagnosticul de LLC este uşor de făcut. Problemele de diagnostic diferenţial sunt legate mai mult de dificultăţile de clasificare a unui număr de boli strâns înrudite sau de variante ale bolii. Oricum, în cazurile în care limfocitoza este sub 5 – 10 mii/mm^3 sau limfocitele au un aspect atipic sau pleomorf, trebuie luate în considerare alte patologii limfoproliferative.

1. Etiologii benigne

- diagnosticul diferenţial este asigurat de către examenul morfologic

a) Hiperlimfocitoze T

– infecţii cronice : tuberculoză, sifilis

– infecţii virale :

* sindroame mononucleozice (EBV, VIH, CMV…)

* altele : VHB, VHC

– infecţii bacteriene : tuse convulsivă (rară la adult)

b) Hiperlimfocitoza B policlonală persistentă

– teren : femeie tânără fumătoare

– limfocite bi-nucleate

– asociere cu HLA-DR7 şi prezenţă recurentă a izocromozomului 3q

– evoluţie benignă

2. Etiologii maligne : hemopatiile leucemizate

- diagnosticul diferenţial se bazează predominant pe
  - examenul morfologic al hemogramei
  - imunofenotipajul celulelor limfoide circulante
- imunofenotipajul permite să se calculeze scorul Matutes care, atunci când este crescut (≥ 4), este în favoarea diagnosticului de LLC.
- se poate recurge uneori la biologia moleculară

a) Hemopatii B

– Leucemia prolimfocitară (LPL) :

* morfologie : celule mai mari cu nucleol proeminent

* fenotip : imunoglobuline de suprafaţă intens exprimate, FMC7+

* prezentare clinică mai agresivă decât LLC

* existenţa unor forme de graniţă LLC/LPL şi evoluţia unor cazuri de LLC către o LPL

– Faza leucemică a unui LMNH :

* LMNH folicular :

- morfologie : celule mici cu nucleul clivat (în boabă de cafea)
- fenotip : FMC7+, CD23-, CD5-
- citogenetică : t(14;18) (crs 14 = locusul genelor lanţurilor grele ale Ig ; crs 18 = bcl-2)
- biologie moleculară : căutarea transcriptului IgH-bcl2

* LMNH cu celulă de manta :

■ morfologie : celule mai mari, cu nuclei neregulaţi

■ fenotip : CD5+ dar FMC7+ si CD23-

■ citogenetică : t(11;14) (crs 14 = locus IgH ; crs 18 = ciclină D1)

■ biologie moleculară : căutarea hiperexpresiei ciclinei D1

* LMNH cu celulă marginală

* LMNH splenic cu celule viloase :

■ morfologie : limfocite cu aspect "vilos"

■ splenomegalie

– Leucemie cu tricoleucocite :

* morfologie : celule limfoide cu prelungiri citoplasmatice fine (aspectul « păros »).

* fenotip : CD5-, FMC7+,CD11c+, CD25+

– Boala Waldenström

* morfologie : proliferare limfoplasmocitară

* prezenţa unei IgM monoclonale circulante importante (macroglobulinemie)

b) Hemopatiile T

– Leucemie prolimfocitară T :

* morfologie : apropiată de cea a LPL B

* fenotip T (CD3+, CD4+)

* prognostic defavorabil

– Leucemia cu celule T a adultului (ATL : Adult T-cell Leukemia) :

* legată de infecţia cu HTLV-I

* morfologie : nuclei polilobulaţi, în treflă sau în floare

* prognostic foarte rezervat

– Sindrom Sezary :

* forma leucemică a unui limfom T epidermotrop (*Mycosis fungoïdes*)

* morfologie : nucleu cerebriform

* fenotip T CD3+, CD4+

– Leucemie cu LMG (*large granular lymphocytes* : limfocite mari granulare) :

* morfologie : citoplasmă abundentă, prezenţă de granulaţii

* fenotip : T sau NK

* asociere a unei poliartrite reumatoide, neutropenii, splenomegalii (sdr Felty)

Tabel* 40 : *Scorul Matutes

Marker	0 puncte	1 punct
• CD5	–	+
• CD23	–	+
• CD79b/CD22	Forte	Slabă
• FMC7	+	–
• Imunoglobuline de suprafaţă	Forte	Slabă

Realizarea frotiurilor de sânge periferic constituie metoda de elecţie pentru evaluarea iniţială a posibilelor cazuri de LLC. Tehnicile de imunofenotipaj constituie principala tehnică de diferenţiere a limfocitozelor benigne de cele maligne şi de clasificare a ultimelor. Imunofenotiparea permite să se calculeze scorul Matutes care, atunci cand este crescut (≥ 4), este în favoarea diagnosticului de LLC. La aceasta se pot adăuga tehnicile de analiză citogenetică şi de biologie moleculară, dar cu specificitate mai redusă.

STADIALIZARE

LLC se prezintă sub un spectru foarte larg în ceea ce priveşte durata de supravieţuire. Astfel, sunt cazuri cu boală avansată, simptomatică, asociind insuficienţă medulară şi cu o durată de supravieţuire de sub doi ani, până la cazuri ce pot rămâne asimptomatice şi stabile, pe durate de peste 20 ani. Această legătură între masa tumorală şi durata de supravieţuire a determinat crearea unor sisteme de stadializare a bolii, ca bază pentru atitudinea terapeutică. Au fost realizate mai multe sisteme de stadializare, dar doar două au rămas în uzul general.

Tabel* 41 - *Clasificarea Rai (1975)

STADIUL	CARACT. CLINICO-BIOLOGICE	GRUPA DE RISC	SUPRAVIEŢUIREA
0	Limfocitoză în sânge şi măduvă	Risc scăzut	**peste 120 luni**
I	Limfocitoză în sânge şi măduvă + adenopatii	Risc intermediar	96 luni
II	Limfocitoză în sânge şi măduvă + splenomegalie şi/sau hepatomegalie +/- ADP		72 luni
III	Limfocitoză + anemie (Hb<110g/l) +/- adenopatii +/- splenomegalie +/- hepatomegalie	Risc crescut	30 luni
IV	Limfocitoză + trombopenie (Tr < 100.000/mm3) +/- adenopatii +/- splenomegalie +/- hepatomegalie		30 luni

Stadiul 0 reprezintă 30% din cazuri, stadiile I şi II 60%, iar stadiile III +IV doar 10% din cazuri.

Tabel* 42 - *Clasificarea Binet (1981)

STD	CARACT. CLINICO-BIOLOGICE	GRUPA DE RISC	SUPRAVIETUIREA
A	Hb>100g/l, Tr>100.000/mm^3 + < 3 arii ganglionare*	Risc scăzut	> 120 luni
B	Hb>100g/l, Tr>100.000/mm^3 + >= 3 arii ganglionare	Risc intermediar	61 luni
C	Hb<100g/l şi/sau Tr<100.000/mm^3 (indiferent de numărul de arii ganglionare)	Risc crescut	32 luni

* Ariile ganglionare - cap, gât, incluzând inelul Waldeyer / axilar / inghinal / splenomegalie clinică / hepatomegalie clinic.

FACTORI DE PROGNOSTIC

- Datorită heterogenităţii evoluţiei, este esenţial să existe criterii de prognostic care să permită încadrarea în forme grave, evolutive şi forme puţin grave sau fără gravitate. Acest lucru ar permite nuanţarea terapiei.
- Făcând o sinteză a diferiţilor factori de prognostic luaţi în discuţie de diferite studii uni- sau multicentrice, cei mai importanţi pentru evaluarea potenţialului evolutiv al fiecărui caz sunt :
    - stadiu avansat (C/Binet sau III, IV/Rai)
    - procent crescut de prolimfocite sau de celule atipice în sânge
    - infiltraţie medulară difuză (biopsie medulară)
    - ***timp de dublare a limfocitelor*** < 12 luni
    - nivel seric crescut al LDH
    - fenotip anormal ($FMC7^+$, $CD23^-$, $CD11b^+$ sau $CD13^+$)
    - cariotip anormal
    - răspuns insuficient la tratament
- Căutarea de noi factori prognostici este justificată de faptul că aproape 50% din cazuri sunt în stadiile incipiente (A, 0-I). Căutarea de criterii predictive pentru o evolutivitate mai rapidă a bolii ar putea determina o iniţiere mai rapidă a tratamentului cu supravieţuire superioară, lucru deosebit de important. Astfel, progresele făcute în studiul biologiei bolii au evidenţiat noi factori de prognostic :
    - analiza citogenetică :
        - anomalii evaluate prin tehnica FISH nu prin citogenetica clasică (mitoze greu de obţinut)
            - prognostic rezervat : deleţii 17p, 11q, trisomii 12
            - examen ce nu este realizat în mod sistematic
    - hipermutaţiile somatice ale genelor imunoglobulinelor :
        - 50% din pacienţi au mutaţii : boală puţin evolutivă
        - 50% din pacienţi fără mutaţii : prognostic rezervat
        - nu este evaluat de rutină (tehnică dificilă şi scumpă)
    - alţi factori de prognostic rezervat :
        - CD23 solubil seric crescut
        - expresia CD38 pe limfocite
        - expresia Zap70

EVOLUŢIE ŞI PROGNOSTIC

Supravieţuirea globală variază între 4 şi 6 ani, până la 10 ani. Au fost descrise supravieţuiri până la 35 de ani de la diagnostic.

- pacienţii aflaţi în stadiul A pot avea o evoluţie lentă, etalată pe mai mulţi ani, având o supravieţuire similară populaţiei generale ;
- unele forme sunt agresive de la început, cu evoluţie rapidă şi complicaţii :

a) **infecţioase**
- Reprezintă principala cauză de morbiditate şi mortalitate la pacienţii cu LLC.
- Patogenia infecţiilor este multifactorială:
    - deficitul imun (umoral şi celular)
    - deficitul în componente ale complementului
    - neutropenia (prin infiltrare medulară în formele avansate şi de origine iatrogenă)
    - factori terapeutici (splenectomia, citostaticele).
- Infecţiile sunt recurente în 80% din cazuri:
    - infecţii bacteriene (mai ales la cei trataţi cu agenţi alkilanţi):
        - pneumopatii comunitare
        - infecţii ORL, urinare, cutanate, septicemii
        - tuberculoză
    - infecţii virale (herpes, zona)
    - infecţii oportuniste (mai ales la cei trataţi cu analogi purinici) :
        - candida
        - aspergiloză
        - pneumocistoză

b) **insuficienţă medulară** - apare în faza ultimă de evoluţie sau post-terapeutic, antrenând complicaţii infecţioase şi hemoragice

c) **manifestări autoimune** – sunt frecvente, depăşind incidenţa prin comparaţie cu populaţia generală. Declanşate frecvent de analogii purinici. Manifestările cuprind :

- ***anemie hemolitică autoimună (AHAI)*** – cu anticorpi la cald, este mai frecventă ca în populaţia generală, incidenţa fiind variabilă de la studiu la studiu (10–35%). LLC este cea mai frecventă cauză a AHAI. Uneori este vorba de o aglutinină la rece de tip IgM (anti-I sau anti-i) cu Coombs direct de tip complement singur.
- ***trombocitopenie autoimună*** - cu o prevalenţă de 2%. Se diagnostichează pe baza următoarelor criterii : trombocitopenie izolată, megakariocite normale sau crescute în măduvă, creştere a volumului plachetar mediu şi a distribuţiei plachetare, depistare de anticorpi antiplachetari în ser sau pe membrana trombocitară. Asocierea cu AHAI este cunoscută sub numele de sdr Evans.
- ***neutropenie imună*** - apare mai frecvent în leucemia cu limfocite mari granulare
- ***aplazie eritroidă pură***
- ***sindrom nefrotic*** şi glomerulonefrită cu complexe imune având în componenţă imunglobuline monoclonale secretate de celulele leucemice

- ***angioedem dobândit*** – se caracterizează prin instalarea tardivă de accese de angioedem şi dureri abdominale datorate unui deficit dobândit în inhibitorul primului component al complementului (C1-INH)
- ***leziuni cutanate autoimune tip penfigoid bulos*** – se manifestă prin ulceraţii dureroase la nivelul orofaringelui şi margini carminate la nivelul buzelor, asociind conjunctivită membranoasă, leziuni cutanate pruriginoase polimorfe, incluzând eritem confluent, zone de denudare, papule la nivelul trunchiului şi extremităţilor cu evoluţie spre vezicule.

d) **sindrom Richter** – denotă dezvoltarea secundară a unei limfoproliferări maligne agresive la un pacient cunoscut cu LLC. Spectrul de limfoproliferări ce pot complica evoluţia LLC a fost lărgit în ultimii ani la :

- ***leucemie prolimfocitară*** : complică evoluţia la aproximativ 2% dintre pacienţi şi reprezintă 20% din sindroamele Richter. Survine lent, după 2-3 ani, cu agravarea progresivă a citopeniilor, accentuarea adenopatiilor, splenomegaliei, rezistenţă la tratament;
- ***limfom agresiv, difuz cu celule mari*** (Sd Richter - definiţia iniţială) : reprezintă 65-70% din transformări. Se observă mărirea de volum a ganglionilor în mod izolat sau asimetric, cu alterarea stării generale, prezenţa simptomelor de tip B, infiltraţii extralimfoide, paraproteinemie, creştere a LDH şi evoluţie rapidă, cu o mediană de supravieţuire sub 5 luni;
- ***boală Hodgkin*** – reprezintă una din cele mai frecvente neoplazii secundare la pacienţii cu CLL (15% din sdr Richter);
- ***leucemii acute*** – rar (sub 1%);
- ***mielom multiplu*** – sub 1%.

e) apariţia de **cancere solide**, secundare : melanom, carcinoame, în special pulmonar...

TRATAMENT

- Diagnosticul de boală odată stabilit, nu semnifică în mod automat demararea tratamentului.
- Vârsta înaintată a pacienţilor, posibilitatea unei evoluţii cronice, indolente, uneori pe perioade suficient de lungi, cât şi caracterul incurabil recunoscut al bolii sub tratamentul convenţional fac ca abstenţia terapeutică cu supravegherea pacienţilor - «wait and watch» - să fie o atitudine larg acceptată.
- Tratamentul se efectuează în anumite condiţii.
- Principalele obiective ale tratamentului în LLC sunt: prelungirea supravieţuirii şi ameliorarea calităţii vieţii.
- Luarea deciziei în ceea ce priveşte *când* trebuie început tratamentul şi mai ales *cum* să tratăm trebuie făcută luând în considerare perspectiva de supravieţuire şi factorii de prognostic pentru fiecare caz în parte.
- În etapa actuală, decizia este mult mai complexă, ţinând seama de existenţa noilor droguri mai active, dar şi mai toxice decât tratamentele clasice.

1. Indicaţii de instituire a tratamentului :

- Se recomandă demararea tratamentului ori de câte ori unul din următoarele elemente (semnificative pentru boală activă) este prezent:
  - prezenţa semnelor de insuficienţă medulară : anemie şi/sau trombopenie ;
  - prezenţa simptomelor generale de tip "B" : febră fără focar infecţios, transpiraţii profuze, scădere în greutate peste 10% ;
  - masă tumorală mare cu adenopatii voluminoase : splenomegalie (splina palpabilă la peste 6 cm sub rebordul costal) şi/sau adenopatii voluminoase (adenopatii sau blocuri adenopatice peste 10 cm în diametru) ;
  - masă tumorală circulantă mare cu limfocitoză peste 250.000/mm^3 ;
  - limfocitoză progresivă - creşterea numărului de limfocite cu peste 50% în ultimele două luni sau un timp de dublare a numărului de limfocite anticipat la mai puţin de 6 luni.
- Categorii cu risc:
  - stadiile III, IV Rai, prezenţa unor anomalii citogenetice ;
  - anemie sau trombopenie autoimune rezistente la corticosteroizi ;
  - progresia bruscă a bolii în cazurile cu evoluţie indolentă până în momentul respectiv.

2. Metode terapeutice :

i) Agenţii alchilanţi :

a) ***Clorambucil (Leukeran)*** - este medicamentul citotoxic cel mai frecvent utilizat şi cel mai bine tolerat. Se administrează per os, fie în continuu, fie intermitent, în doze bilunare sau lunare. De fiecare dată se asociază Prednison.

b) ***Ciclofosfamidă (Endoxan)*** – administrată în continuu sau în pulsuri, asociată sau nu cu Prednison, sub control hematologic, poate constitui o alternativă acceptabilă ;

c) alte variante utilizate : ***Vincristină (Oncovin)*** + Prednison, în cure repetate lunar;

d) ***corticoizii*** pot fi utilizaţi uneori în monoterapie, fiind eficaci în diminuarea volumului ganglionilor limfatici şi splinei, în ameliorarea anemiei şi/sau trombopeniei asociate.

ii) Polichimioterapia

- Asocierea de mai multe droguri citotoxice, în diferite combinaţii, a fost indicată în formele mai avansate, cu un prognostic mai rezervat.
- Combinaţiile de tip : **COP** (Ciclofosfamidă, Vincristina, Prednison) sau **CHOP** (Ciclofosfamidă, Doxorubicin, Vincristina, Prednison).
- Curele lunare cu durata de 4 zile.
- Creşte priocentul de remisiuni, dar nu şi supravieţuirea.

iii) Analogii nucleozidici - Fludarabina (F)

- Este un analog nucleozidic de adenină şi reprezintă, la ora actuală, cel mai eficace medicament anti-LLC.
- Se administrează în monoterapie, în cure lunare timp de 5 zile, pe o durată de minimum 6 luni.
- Tratamentul antrenează un important risc infecţios (în special pneumonii şi febre de origine neprecizată) datorită mielosupresiei şi imunosupresiei.
- Se realizează profilaxia infecţiilor prin asocierea de Biseptol şi Aciclovir.

- Alte toxicităţi : neurotoxicitate, greţuri, vărsături, stomatită.
- Nu este indicat în formele care asociază complicaţii autoimune.
- Creşte durata până la recădere, dar nu şi supravieţuirea.
- Rezultate superioare se obţin prin asocierea cu alte droguri precum Ciclofosfamida (FC), Mitoxantronul (FM sau FCM) şi Rituximabul (FCR – care a devenit terapia standard de prima linie).

iv) Anticorpii monoclonali

- Se administrează în monoterapie sau în asociere cu chimioterapia.
- Asocierea cu chimioterapiile este preferată, fiind motivată de mecanismul de acţiune diferit, potenţialul sinergic, toxicitatea diferită (risc cumulativ scăzut), o mai bună penetrabilitate tumorală în formele cu masă tumorală mare (*bulky disease*).
- ***Rituximab (Mabtera - R)*** – este un anticorp monoclonal himeric dirijat împotriva **CD20**, un antigen prezent pe membrana tuturor limfocitelor pre-B şi limfocitelor B mature normale, pe celulele din limfomul folicular şi limfocitele din LLC. Produsul antrenează citotoxicitate mediată de către complement şi anticorpi, alături de inducerea apoptozei.
- ***Alemtuzumab (Campath-1H)*** - este un anticorp himeric umanizat, obţinut prin inginerie genetică din regiunea variabilă a anticorpului **anti-CD 52** (de la şoarece) şi regiunea constantă a lanţului greu şi uşor al IgG1 uman.
- ***Ofatumumab (Arzera)*** – anticorp monoclonal uman anti-CD20 care inhibă activarea celulelor B în stadii precoce. Este indicat la pacienţii cu LLC refractari la fludarabină şi alemtuzumab, şi de primă linie în asociere cu Clorambucil.
- ***Obinotuzumab (Gazyvaro)*** – anticorp citolitic direcţionat anti-CD20, care, după legarea la CD20, mediază liza celulelor B prin trei mecanisme : (1) prin angajarea celulelor imune efectoare, (2) prin activarea directă a căilor intracelulare de semnalizare a apoptozei şi/sau (3) activarea cascadei complementului. Este indicat ca tratament de primă linie asociat cu Clorambucil la pacienţii în vârstă sau cu comorbidităţi care nu tolerează terapia de tip FCR.

v) Molecule noi

- ***Ibrutinib*** – inhibitor de Bruton tyrosine-kinasă (BTK). BTK este o moleculă de semnalizare a receptorului celulei B (*B-cell antigen receptor* - BCR). Este indicat la pacienţii cu LLC de primă linie sau trataţi şi mai ales la pacienţii purtători ai deleţiei cromosomului 17 (del 17p, asociată cu rezistenţă la terapia standard).
- ***Idelalisib*** – este un inhibitor de fosfoinositol 3-kinase (PI3K) delta. Idelalisib induce apoptoza şi inhibă proliferarea în celulele provenite din linia B; inhibă de asemenea câteva căi de semnalizare inclusiv de la receptorul celulei B (BCR) şi semnalizarea CXCR4 şi CXCR5, implicate în deplasarea şi homingul celulelor B în ganglioni şi măduvă. Este indicat la pacienţii cu boală recăzută.

vi) Transplantul de celule stem

Transplantul de celule susă reprezintă o alternativă terapeutică la pacienţii cu prognostic rezervat reprezentat de cei cu răspuns terapeutic insuficient, ca şi de cei care reevoluează după terapia cu analogi purinici sau combinaţii chimioterapice.

3. Strategii terapeutice :

- ***std A (0)*** : abstenţie terapeutică şi consult periodic la 3-6 luni (« watch and wait »). Tratamentul poate fi început cu monoterapie în cazul creşterii limfocitelor peste 80.000 – 120.000/mm^3. Iniţiera tratamentului se face în situaţiile enumerate mai sus (vezi subcapitolul).
- ***std B (I, II) fără factori de risc*** : abstenţie terapeutică şi consult periodic la 2-4 luni. Tratamentul se demarează în caz de progresie tumorală solidă sau circulantă (condiţiile enumerate mai sus).
- ***std B (I, II) cu factori de risc*** : monoterapie de tip Clorambucil sau Ciclofosfamidă +/, iradiere splenică la cei cu splenomegalie simptomatică. In caz de eşec, se trece la polichimioterapie sau la agenţi nucleozidici.
- ***std C (III, IV)***:
  - Pentru pacienţii cu stare generală bună (PS 0-2), fără comorbidităţi şi funcţie renală corectă(go go), se recomandă utilizarea de cure FC/FCR/FCM.
    - Fludarabină, ciclofosfamidă şi rituximab (FCR)
    - Pentostatin, ciclofosfamidă şi rituximab (PCR)
    - Fludarabină, ciclofosfamidă şi mitoxantronă (FCM)
    - Ciclofosfamidă, vincristină şi prednison (CVP)
    - Ciclofosfamidă, doxorubicină, vincristină şi prednison (CHOP).
  - Pentru pacienţii cu stare generală alterată (PS 3-4), comorbidităţi şi/sau funcţie renală alterată, se recomandă tratament cu Clorambucil +/- Obinotuzumab, asociind ulterior tratament cu Eritropoietină.
  - Pentru pacienţii care au deleţii 17p sau mutaţii p53, se recomandă o schemă terapeutică cu Alemtuzumab, existând frecvent rezistenţă la F sau FC. Mai nou, terapie cu Ibrutinib sau Idelalizib.
  - Pentru cazurile care asociază anemie hemolitică, se recomandă cure de tip CHOP-Rituximab.
  - Pentru pacienţii cu vârste avansate, cu comorbidităţi majore, se recomandă terapia cu Clorambucil, Ciclofosfamadă (cu rol mai mult paliativ).

4. Terapii complementare

- ***Splenectomia*** - este o atitudine terapeutică rar utilizată în LLC. Ar putea fi indicată în caz de :
  - hipersplenism cu citopenii rezistente la corticoterapie şi chimioterapie
  - anemie hemolitică şi/sau trombocitopenie autoimună rezistente la corticoterapie
  - splenomegalie tumorală, simptomatică.

- ***Radioterapia*** - indicaţiile sunt relativ restrânse :
  - iradiere splenică ca alternativă pentru splenectomie (indicaţiile sunt mai sus), cu diminuarea dimensiunilor splinei şi ameliorarea tabloului hematologic la 63 - 78% pacienţi
  - iradierea ariilor limfatice voluminoase la cei rezistenţi la chimioterapie
  - iradiere corporală totală în protocolul de pregătire pentru grefă

5. Tratament simptomatic şi al complicaţiilor

- ***Infecţii*** – profilactic, se administrează în mod periodic i.v. gamaglobuline polivalente 400 mg/kg o dată la 3-4 săptămâni, iar curativ antibioterapie.
- ***Anemia hemolitică (AHAI)*** - tratamentul este în paliere, în funcţie de răspunsul la terapia anterioară:
  - tratamentul standard este Prednisolon 1mg/kg/zi timp de 10 – 14 zile, apoi reducerea treptată în următoarele trei luni
  - în caz de stadiu avansat al LLC, în care se implică şi infiltrarea medulară, se va apela la citostatice – Leukeran, Ciclofosfamidă, Azatioprină
  - imunglobuline administrate intravenos – 0,4 g/kg/zi x 5 zile, cu eventuală repetare la 3 – 4 săptămâni
  - splenectomie, iradiere splenică, danazol, plasmafereză
  - cyclosporină 5 – 10 mg/kg/zi, cu scădere treptată la doza de întreţinere de 3 mg/kg/zi. Se foloseşte doar când precedentele au eşuat.
  - în cazul în care AHAI se datorează Fludarabinei, trebuie renunţat la orice tratament ulterior cu derivaţi purinici.
- ***Trombocitopenia autoimună***- atitudine similară:
  - formele asimptomatice trebuie tratate doar când Tr < 30.000/mm^3 ;
  - sunt internate doar cazurile cu hemoragii mucoase sau alte hemoragii severe ;
  - tratamentul standard este Prednisolon 1 mg/kg/zi ;
  - în caz de ineficienţă a precedentului, se utilizează imunglobulinele cu administrare intravenoasă (în dozele de mai sus) ;
  - derivaţii de vinca pot fi utili : Vincristina sau Vinblastina;
  - splenectomia poate fi mai eficace decât în AHAI ;
  - în caz de hemoragii severe, cu risc vital, se poate administra Metilprednisolon 1 g/zi x 3, urmat de transfuzie de concentrat plachetar +/- acid tranexamic
- ***Hipersplenism*** - splenectomie sub profilaxia infecţiei cu pneumococ (vaccin antipneumococic)
- ***Hiperuricemie*** – hidratare minim 1.500-2.000 ml/zi, eventual alcalinizarea urinilor cu soluţie bicarnonatată, Allopurinol 100-300 mg/zi.

MIELOMUL MULTIPLU (MM)

INTRODUCERE

- Mielomul multiplu este o proliferare plasmocitară malignă la nivelul măduvei osoase, însoţită, în general, de secreţia unei imunglobuline monoclonale complete sau a unui lanţ uşor, kappa sau lambda.
- Elementele sugestive pentru diagnosticul de MM sunt :
  - prezenţa unei cantităţi crescute şi omogene de imunoglobuline monoclonale sau de fragmente ale acestora în ser şi /sau urină (proteinuria Bence Jones) ;
  - infiltrat plasmocitar al măduvei osoase şi / sau al altor ţesuturi;
  - leziuni osteolitice asociate sau nu durerilor osoase sau fracturilor patologice;
  - prezenţa frecventă a anemiei secundare datorată invaziei medulare plasmocitare;
  - în unele cazuri, prezenţa insuficienţei renale şi a hipercalcemiei.

EPIDEMIOLOGIE

- Incidenţa bolii variază, în funcţie de studii, între 3,4 şi 4 cazuri noi pe an la 100.000 de locuitori.
- Reprezintă 1% din bolile neoplazice, în totalitate, şi 10% din neoplaziile hematologice.
- Boala survine la toate rasele. Se pare că incidenţa este mai scăzută la populaţia asiatică, iar incidenţa la rasa neagră este dublă faţă de cea la rasa albă.
- Mediana vârstei la diagnostic este de aproximativ 60 ani, incidenţa la vârste mai tinere fiind mult mai redusă. Astfel, doar 13% dintre pacienţi au sub 50 de ani la diagnostic şi doar 2% sub 40 ani.
- Incidenţa pe sexe este de 4,7/100.000 la bărbaţi şi de 3,3/100.000 la femei.

ETIOLOGIE

- Etiologia mielomului multiplu rămâne, ca şi pentru alte neoplazii, o necunoscută.
- Se discută rolul mai multor factori etiologici. Expunerea la acţiunea acestora pare a antrena un risc sporit de apariţie a bolii, dar implicarea lor nu constituie o certitudine:
  - expunerea la radiaţii
  - expuneri profesionale : praful de cereale, seminţe, animale, insecticide, rafinarea nichelului, industria cauciucului, industria lemnului şi hârtiei, benzen şi derivaţi, hidrocarburi aromate
  - factori genetici şi familiali – cazuri de agregare familială a mieloamelor sau a altor gamapatii monoclonale
  - stimularea antigenică cronică - incidenţă crescută a mielomului printre pacienţii cu boli alergice, boli musculo-scheletice, artrita reumatoidă.

PATOGENIE

1. Proliferarea plasmocitară

- Mielomul multiplu reprezintă proliferarea neoplazică a unei clone de celule plasmocitare. Morfologia tipică a acestor celule este aceea a unui plasmocit matur care, în mod normal, reprezintă stadiul terminal al diferenţierii liniei limfocitare B. Sub aspect fenotipic, aceste celule exprimă imunoglobuline citoplasmatice (**cIg$^+$**), **CD38$^+$** (exprimarea intensă a acestui marker este o caracteristică a celulelor plasmocitare), **CD19$^+$**, **PCA-1$^+$**, **CD56$^+$**, **CD45RO$^+$**. Numai o minoritate dintre ele exprimă **CD10(CALLA)**, **HLA-DR** şi **CD20**.
- Mielomul multiplu reprezintă un proces malign cu evoluţie în trepte, multistadială. Ca şi în cazul altor neoplazii hematologice (LLC, LMNH de joasă malignitate, LGC şi SMD), mielomul evoluează de la un proces relativ benign spre o fază de înaltă malignitate.
- Pentru a înţelege mecanismul fiziopatologic, este esenţial să se ia în considerare plasmocitele maligne în interacţiune permanentă cu micromediul medular osos. Pentru a supravieţui, plasmocitele tumorale depind de citokinele şi factorii de creştere pe care le găsesc în micromediul medular osos, fie proveniţi din celule, fie eliberaţi de matricea osoasă în timpul resorbţiei osoase (ex : IGF1).
- În patogeneza mielomului multiplu, **IL-6** joacă un rol central. Mecanismul de acţiune autocrin sau paracrin rămâne încă în discuţie, dar rolul de stimulator al creşterii celulelor mielomatoase rămâne cert.
- IL-6 joacă şi un rol important în generarea leziunilor osoase.
- In funcţie de Ig secretată, se disting mieloame cu :
    - IgG (50 %), IgA (25 %)
    - lanţuri uşoare (20 - 25 %)
    - IgD (2 %) şi alte rarităţi (IgE)
    - uneori, plasmocitele secretă Ig completă şi un exces de lanţuri uşoare.

Mieloamele nonsecretante (Ig nesintetizate) şi nonexcretante (Ig blocate în citoplasmă) sunt foarte rare.

2. Consecinţele proliferării plasmocitare

a. Sinteza unei imunoglobuline monoclonale complete sau a unui lanţ uşor monoclonal

Ig pot avea propriile lor consecinţe :

- creştere a vâscozităţii plasmatice atunci când este secretată în cantitate mare
- tablou de crioglobulinemie tip I dacă precipită la rece
- amiloidoză AL (atingere renală, cardiacă, digestivă) prin depozite tisulare de lanţuri uşoare
- precipitare a lanţurilor uşoare în tubii renali sub formă de cilindri, responsabili de o tubulopatie evoluând spre insuficienţă renală; precipitarea este favorizată de iod, AINS, dezhidratare şi acidoză
- acţiune de autoanticorpi, printre care, cel mai cunoscut, este acţiunea anti-mielină responsabilă de o neuropatie senzitivă în cadrul sindromului POEMS.

b. Proliferare plasmocitară malignă la nivelul măduvei osoase ale cărei consecinţe asupra micromediului medular sunt duble :

- ***afectarea progresivă a hematopoiezei:***
    - inhibiţia limfopoiezei B ce explică diminuarea imunglobulinelor fiziologice, cauză a unui deficit imun umoral favorizând infecţiile
    - citopenii : anemie, trombo/neutropenie
- ***creşterea rezorbţiei osoase :***
    - activarea osteoclastelor sub efectul IL6, IL-1ß, TNF se află la originea hipercalcemiei şi manifestărilor osoase

3. Oncogeneza

- ***Istoria naturală*** a mielomului este cea a unei filiaţii din stadiul de gammapatie monoclonală benignă (MGUS) în stadiul de mielom osos, apoi în stadiul de mielom cu localizări extramedulare. Pe măsură ce dependenţa de stroma medulară şi de citokine (IL6) diminuează, în timp ce instabilitatea cromozomială şi mutaţiile se acumulează, fac mielomul mai agresiv, mai proliferativ, angiogenic şi osteolitic.
- ***Anomaliile cromozomiale*** au fost puse iniţial în evidenţă în citogenetica clasică, apoi prin tehnica FISH: de exemplu, hiperdiploidia, trisomia 3 sau 5. Monosomia 13 prin pierderea unui cromozom ar fi evenimentul precoce definind un subgrup de MGUS cu prognostic rezervat care evoluează către mielom.
- ***Translocaţiile cromozomiale*** **:** cu tehnica FISH, a putut fi detectat la 75% dintre pacienţi o translocaţie în regiunea 14q32 (regiunea de recombinare VDJ a limfocitelor B) cu o genă parteneră implicată în proliferarea celulară. De exemplu
    - t(11,14) induce hiperexpresia ciclinei D1
    - t(4,14) induce activarea constitutivă a receptorului 3 pentru factorul de creştere FGF. Defineşte MM cu prognostic negativ.

CIRCUMSTANŢE DIAGNOSTICE

- Manifestări osoase – dureri, deformări, fracturi pe os patologic
- Descoperire fortuită cu ocazia unui bilanţ sistematic
- Complicaţii
- O alterare a stării generale cu astenie, fatigabilitate, scădere în greutate
- În cadrul unui bilanţ, cu ocazia descoperirii unei VSH foarte crescut

MANIFESTĂRI CLINICE

Manifestările clinice prezente la pacienţii cu MM sunt o reflectare a fiziopatologiei bolii şi, în primul rând, o consecinţă a proliferării celulelor mielomatoase cu producţia de proteină monoclonală.

A. Manifestări datorate proliferării tumorale

Proliferarea plasmocitară tumorală afectează, de obicei, scheletul axial (craniu, coloană, grilaj costal, bazin) şi extremităţile proximale ale oaselor lungi. În majoritatea cazurilor,

survin leziuni osteolitice asociind osteoporoză generalizată. Leziunile osoase se pot manifesta prin deformare locală, dureri osoase sau fracturi pe os patologic.

- ***Durerea osoasă*** reprezintă cea mai frecventă manifestare clinică, prezentă la 70% dintre pacienţi în momentul diagnosticului. Iniţial, poate lua aspectul unei dureri cu caracter inflamator, pretând la confuzie cu o afecţiune de tip reumatismal. Ulterior, aspectul se modifică : dureri profunde, persistente, cu recrudescenţă nocturnă, necalmate prin repaos, cu localizare preferenţială la nivelul coloanei, bazinului, toracelui sau difuze. Apar şi se agravează progresiv, devenind rezistente la antialgicele uzuale, şi antrenează o impotenţă funcţională dureroasă. Se poate asocia uneori şi un aspect mecanic.
- ***Radiculalgii*** variate : sciatice, cruralgii, dureri în semi-centură
- ***Deformările osoase*** pot fi determinate de apariţia unor tumori localizate, plasmocitoame, adesea la nivelul calotei craniene.
- ***Fracturile pe os patologic*** pot apărea de la debut, ocazionând diagnosticul, sau în evoluţie. Fracturile pot apărea la orice nivel, mai frecvent întâlnite la nivelul coloanei şi grilajului costal. Fracturile vertebrale influenţează negativ prognosticul cazului. Pot surveni fracturi cu tasare, antrenând scurtări ale trunchiului sau deformări ale coloanei, sau fracturi cu protruzie, compresiune medulară şi manifestări neurologice.
- ***Hipercalcemia*** survine prin eliberarea crescută de calciu în sânge. Se manifestă prin astenie, fatigabilitate, poliurie, sete, greţuri, vărsături, anorexie şi constipaţie, cu alterarea stării de conştienţă manifestată prin stare de confuzie sau stupoare. Hipercalcemia acută reprezintă o urgenţă medicală, impunând recunoaştere şi tratament rapid.
- ***Citopenii*** variabile, manifeste sau nu, datorate infiltrării medulare.

B. Manifestări datorate prezenţei proteinei monoclonale

Prezenţa imunglobulinei monoclonale în cantitate mare poate antrena un **sindrom de hipervâscozitate**. Manifestările clinice se datorează tulburărilor circulatorii antrenate de hipervâscozitate:

- ***semne generale*** – astenie, fatigabilitate, anorexie ;
- ***tulburări vizuale*** cu aspect particular la examenul fundului de ochi – vase cu aspect de "cârnaţi", hemoragii şi exudate ;
- ***manifestări neurologice*** cu cefalee, ameţeli, vertije, mergând până la somnolenţă, stare confuzională, stupor şi comă, ca urmare a ocluziilor vasculare intracerebrale. Pot apărea manifestări de tip AVC cu pareze sau crize jacksoniene ;
- ***fenomene de decompensare cardiacă*** - mai ales la vârstnici sau la cei cu afecţiuni cardiace subjacente ;
- ***hemoragii cu diferite localizări*** – reprezintă complicaţia hematologică a hipervâscozităţii, agravată de activitatea de anticorp a componentei monoclonale asupra factorilor coagulării ;
- ***manifestări dermatologice*** - sdr Raynaud, purpură vasculară, *livedo reticularis*, infarcte ale extremităţilor cu sau fără gangrenă.

Proteina monoclonală poate avea un **comportament de tip autoanticorp,** fiind dirijată împotriva unor structuri proprii precum :

- ***eritrocitele*** – boala hemaglutininelor la rece, tendinţă la formarea de rulouri/fişicuri ;
- ***trombocitele*** – afectarea funcţiilor plachetare cu favorizarea hemoragiilor;
- ***mielina*** - mai ales IgM (80% cazuri), conducând la o neuropatie senzitivo-motorie demielinizantă ;
- ***factorii coagulării*** (II, V,VII, VIII, fibrinogen) – cu apariţia de fenomene hemoragice ;
- ***factorul von Willebrand*** ;
- ***lipoproteina*** - cu apariţia unei hiperlipemii şi xantoame ;
- ***hormonii tiroidieni*** (T3, T4) cu apariţia unei hipotiroidii ;
- ***structurile peretelui vascular*** cu manifestări de tip vasculitic.

Proteinele monoclonale la unii pacienţi se pot manifesta ca crioglobuline care precipită la rece, conferind pacientului o sensibilitate crescută la temperaturi scăzute. În aceste situaţii, pot surveni : acrocianoză, urticarie la rece, parestezii, fenomene Raynaud. În situaţii extreme, se poate ajunge la hemoragii, tromboze, gangrene ale extremităţilor.

C. Susceptibilitate crescută la infecţii

Aceste perturbări favorizează o incidenţă crescută a infecţiilor, cu diverse localizări, mai ales cu germeni încapsulaţi ca *Streptoccoccus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*. Cu evoluţia bolii, creşte incidenţa infecţiilor cu germeni gram negativi şi cu *Staphyloccoccus aureus*.

D. Afectare renală

- Afectarea renală reprezintă o constantă a mielomului multiplu.
- Ea poate fi prezentă de la diagnostic sau, cel puţin, survine în evoluţie.
- În majoritatea cazurilor, funcţia renală se ameliorează sub tratamentul bolii.
- Afectarea renală apare mai frecvent în formele secretante de IgD, urmând cele cu IgA şi cele cu IgG.
- Cauza principală a afectării renale o constituie lanţurile uşoare (proteina Bence Jones). Acestea se elimină în cantităţi crescute la nivelul glomerulilor renali (proteinurie).
- Alţi factori care pot contribui la agravarea alterării renale sunt :
    - hipercalcemia cu hipercalciurie
    - hiperuricemia prin distrucţie celulară
    - amiloidoza
    - deshidratarea
    - infecţiile
    - consumul medicamentos de tipul antiinflamatoriilor nesteroidiene, interferonului, antibioticelor nefrotoxice administrate.

E. Alte manifestări

1. Manifestări neurologice

- sindrom de compresiune medulară datorată fie unei tumori plasmocitare de vecinătate, fie prin fractură vertebrală. Poate debuta prin dureri radiculare agravate de tuse, strănut şi evoluează rapid spre deficite senzitive, motorii, până la paraplegie şi lipsa controlului sfincterian ;
- invazia mielomatoasă a meningelui ;
- infiltraţie mielomatoasă a bazei craniului, cu compresie şi paralizie de nervi cranieni ;
- polineuropatie senzitivo-motorie moderată, cu areflexie, dureri, ataxie ;
- leucoencefalie multifocală ;
- encefalopatie hipercalcemică.

2. ***Manifestări cutanate***
   - vasculită leucocitoclazică
   - manifestări în cadrul sdr de hipervâscozitate
   - manifestări din cadrul crioglobulinemiilor
   - manifestări în cadrul amiloidozei şi depunerilor de lanţuri uşoare
   - plasmocitom cutanat
   - manifestări din POEMS
3. ***Manifestări cardiovasculare***
   - decompensare cardiac în cadrul sdr de hipervâscozitate
   - infiltrare cu amiloid şi cardiomiopatie restrictivă sau dilatativă

INVESTIGAŢII PARACLINICE

1. ***Examenul hematologic*** evidenţiază în 60-65% din cazuri, la diagnostic, o anemie normocromă, normocitară, aregenerativă. Liniile granulocitară şi trombocitară sunt afectate variabil, în funcţie de infiltraţia plasmocitară medulară, de activitatea de tip autoanticorp a proteinei monoclonale, de tratamentele primite. Examenul frotiului de sânge periferic evidenţiază adesea prezenţa de rulouri (fişicuri) eritrocitare, element ce sugerează diagnosticul.

2. ***Viteza de sedimentare a eritrocitelor*** este mult accelerată, depăşind adesea 100 mm/1h.

3. ***Analiza proteinelor serice*** evidenţiază o hiperproteinemie (adesea > 100 g/l). Se realizează cu ajutorul :

3.a. electroforezei proteinelor serice – se caracterizează prin prezenţa unui «pic monoclonal al gamma- sau betaglobulinelor» (bandă îngustă şi densă), adaugată imunoglobulinelor fiziologice (aspect de «pic pe o colină») sau, în formele avansate, cu o inhibare a limfopoiezei normale, cu hipogammaglobulinemie (aspect de «pic într-o vale»). Rareori, în caz de mielom cu IgA, pic-ul este în câmpul beta-globulinelor. Acest pic poate fi dozat şi se corelează cu masa tumorală;

3.b. imunodifuziei – realizează dozajul ponderal al imunglobulinelor şi permite dozarea IgG, IgA şi IgM. Arată, adesea, o diminuare, chiar prăbuşire a celorlalte clase de imunoglobuline;

3.c. imunofixării proteinelor sanguine, care permite caracterizarea imunoglobuliei monoclonale (tipul de lanţ greu şi de lanţ uşor). În mieloamele cu lanţuri uşoare, se observă tipic absenţa pic-ului, precum şi doar o hipergammaglobulinemie şi lanţuri uşoare circulante ;

4. ***analizei urinei***, care evidenţiază în 80% din cazuri prezenţa unei proteine monoclonale (Bence Jones). Este necesară realizarea unei electroforeze urinare pentru diferenţierea între o proteinurie selectivă (implicare tubulară) sau neselectivă (implicare glomerulară). Imunelectroforeza şi imunofixarea proteinelor urinare sunt utile în evidenţierea componentei monoclonale;

5. ***analizei funcţiei renale,*** care evidenţiază creşteri ale creatininei serice în peste 50% din cazuri, la diagnostic. Clearance-ul creatininei este un test mai sensibil;

6. ***Ionogramei,*** care arată creşteri ale calcemiei la peste 30% de pacienţi, la diagnostic;

7. ***examenelor imagistice***. Rolul examenelor imagistice în mielomul multiplu include evaluarea la diagnostic a extinderii şi severităţii leziunilor osoase, identificarea şi caracterizarea complicaţiilor, evaluarea periodică, sub tratament, a bolii osoase. Examenele imagistice cuprind :

⇨ examenul radiologic osos, care rămâne tehnica imagistică standard pentru screening-ul la diagnostic şi pentru supravegherea leziunilor osoase. El pune în evidenţă leziuni osoase la peste 75% dintre cazuri. Bilanţul osos ar trebui să cuprindă radiografii ale craniului, coloanei vertebrale, bazinului, grilajului costal şi oaselor lungi. Leziunile tipice sunt de tip litic sau osteoporoză generalizată. Se pot evidenţia fracturi patologice, mai frecvent costale şi vertebrale. Leziunile condensante sugerează metastaze. În 20% din cazuri, radiografiile sunt normale;

⇨ scintigrama osoasă, cu indicaţii limitate, având o sensibilitate inferioară radiografiei standard în mielomul multiplu;

⇨ examenul RMN, util la pacienţii cu radiografii normale şi în evaluarea cazurilor cu invazie a ţesuturilor moi. Reprezintă o tehnică de elecţie pentru cazurile în care se suspicionează o invazie a canalului medular sau un plasmocitom osos solitar ;

⇨ examenul CT, cu o sensibilitate superioară radiologiei standard în detectarea leziunilor osteolitice mici, este utilizat în precizarea unor aspecte neclare pe radiografia osoasă standard.

8. ***examinării măduvei osoase hematoformatoare***, care reprezintă investigaţia hotărâtoare pentru diagnosticul bolii. Se realizează prin analiza puncţiei medulare (mielograma) şi a biopsiei osoase. În mod normal, în măduva osoasă sunt prezente 5-10% plasmocite imature. Prezenţa în aspiratul medular a peste 15-20% plasmocite imature este în favoarea diagnosticului, mai ales când sunt aşezate în plaje. Uneori sunt prezente forme gigante, cu doi nuclei, cu anomalii de formă nucleară.

9. ***altor analize*** care pot prezenta interes :
   - dozarea acidului uric - hiperuricemie accentuată mai ales post-terapeutic
   - dozarea LDH şi beta2-microglobulinei - markeri indirecţi ai volumului tumoral, are şi valoare prognostică
   - dozarea fosforului seric - hiperfosfatemie

- dozarea proteinei C reactive – rol prognostic
- examenul citogenetic al celulelor tumorale – determinarea anomaliilor cromozomiale din celulele tumorale (rol prognostic)
- examenul FISH - determinarea anomaliilor cromozomiale din celulele tumorale (rol prognostic).

DIAGNOSTIC ŞI STADIALIZARE

a) Diagnosticul pozitiv

Durie şi Salmon au formulat o serie de criterii majore şi minore pentru a facilita diagnosticul bolii. Asocierea a unui criteriu minor cu unul major sau a trei criterii minore, din care obligatoriu primele două, permite diagnosticul.

I. Criterii majore

1. plasmocitom la biopsia tisulară
2. infiltraţie medulară cu peste 30% plasmocite
3. prezenţa unui pic monoclonal globulinic la electroforeza proteinelor serice: IgG>35g/l, IgA>20g/l, prezenţa de lanţuri uşoare peste 1g/24 ore, la electroforeza proteinelor urinare

II. Criterii minore

1. infiltraţie medulară cu 10-30% plasmocite
2. prezenţa unui pic monoclonal la electroforeza proteinelor serice, dar sub valorile de mai sus
3. prezenţa de leziuni osteolitice
4. normal IgM<0,5g/l, IgA<1g/l, IgG<6g/l

b) Diagnosticul diferenţial

Diferite caracteristici clinico-biologice prezente la pacienţii cu mielom pretează la diagnosticul diferenţial cu alte boli.

- În primul rând, se impune diferenţierea de alte gammapatii monoclonale precum : gammapatia monoclonală benignă, gammapatia monoclonală cu semnificaţie necunoscută, macroglobulinemia, boala lanţurilor grele, amiloidoza.
- Creşterea imunglobulinelor şi/sau plasmocitoza medulară impun diferenţierea de colagenoze, vasculite, boala complexelor imune, ciroză, alte limfoproliferări cronice (leucemia limfatică cronică, LMNH, boala Hodgkin).
- Leziunile osoase litice sau osteoporozice pot preta la confuzie cu metastaze carcinomatoase cu punct de plecare pulmonar, prostatic, mamar, renal, sau dezechilibre ale metabolismului calcic în hiperparatiroidism, boli renale.

c) Stadializare

Stadiul unui caz de mielom multiplu este dat de masa tumorală prezentă în organism la un moment dat. Determinarea stadiului bolii pentru fiecare caz în parte este importantă prin influenţa pe care o are acesta asupra prognosticului şi, deci, a indicaţiei terapeutice.

Tabel 44 - Stadializarea Mielomului Multiplu

STADIALIZAREA MIELOMULUI MULTIPLU (DURIE ŞI SALMON)		
Stadiul	**Criterii**	**Masă tumorală (celule x $10^{12}/m^2$)**
I.	Toate criteriile următoare trebuie să fie prezente : a) Hemoglobina peste 10 mg/dl sau Ht > 32% b) Calciul seric normal (sub 12 mg/dl) c) Pe radiografii - structura osoasă normală sau plasmocitom solitar d) Proteina monoclonală la niveluri scăzute 1. IgG < 5g/dl 2. IgA < 3g/dl 3. Proteina Bence Jones urinară < 4g/24 ore	< 0,6 (mică)
II.	Toţi cei care nu se încadrează în categoria celor cu masă tumorală mică sau mare	0,6-1,2 (intermediară)
III.	Toate criteriile următoare trebuie să fie prezente : a) Hemoglobina sub 8.5 mg/dl b) Calciul seric peste 12 mg/dl c) Leziuni osteolitice avansate d) Proteina monoclonală la concentraţii crescute 1. IgG > 7g/dl 2. IgA > 5g/dl 3. Proteina Bence Jones urinară > 12 g/24 ore	> 1,2 (mare)
Subclasificare : A : Funcţia renală normală (creatinina sub 2 mg/dl) B : Funcţia renală alterată (creatinina peste 2 mg/dl)		

Durie şi Salmon au utilizat câteva criterii care exprimă indirect masa tumorală : valoarea hemoglobinei, calcemia, cantitatea de proteină monoclonală prezentă în ser, cantitatea de proteină Bence Jones eliminată zilnic în urină şi aspectul radiologic al oaselor ţintă. În funcţie de aceste elemente, ei grupează boala în trei stadii (I-III) corespunzătoare unei anumite mase tumorale (***Tabel 43***). Prezenţa sau absenţa alterării funcţiei renale subclasifică fiecare stadiu în B sau A.

PROGNOSTIC

Prognosticul bolii poate fi exprimat prin durata de supravieţuire a pacienţilor, durată ce variază de la câteva luni până la câţiva (zece) ani. Mediana duratei de supravieţuire este de 30-36 luni.

Factorii principali care influenţează prognosticul sunt :

- vârstă de peste 65 ani
- PS 3 sau 4
- nivelul componentei monoclonale (IgG>70 g/l, IgA>50 g/l, prot Bence Jones>12 g/24 ore)
- anemie (Hb < 10 g/dl)
- hipercalcemie
- leziuni osteolitice avansate
- funcţie renală alterată (creatinina > 1,8 mg/dl)
- nivel crescut al beta2-microglobulinei serice (β-2 m)

- nivel crescut al proteinei C reactive (PCR)
- nivel crescut al LDH
- infiltrare plasmocitară medulară de peste 33%
- morfologie plasmoblastică a celulelor tumorale
- anomalii citogenetice
- index de proliferare plasmocitară (IPP) de peste 1%

Alţi factori

a) determinarea procentului de celule mielomatoase circulante
b) dozarea albuminei – albumina scăzută are o valoare prognostică negativă
c) anemia – are o valoare prognostică negativă (secundară)

↳ Grupul Internaţional de studiu al Mielomului a formulat un Sistem Internaţional de Stadializare (SIS) pe baza analizei a 11.171 de pacienţi trataţi cu terapii standard şi terapii în doze mari. Acest sistem are o utilitate practică mai mare:

- risc scăzut (β-2 m < 3,5 mg/l + albumine > 3,5 g/dl) : supravieţuire mediană de 62 luni
- risc intermediar (β-2 m < 3,5 mg/l + albumine < 3,5 g/dl sau β-2 m 3,5 – 5,5 mg/l + albumine > 3,5 g/dl) : supravieţuire mediană de 44 luni
- risc crescut (β-2 m > 5,5 mg/l) : supravieţuire mediană de 29 luni

TRATAMENT

▪ Tratamentul mielomului multiplu este complex. El antrenează decizii specifice fiecărui caz, decizii care trebuie să ţină seama de o serie de factori : proliferarea în sine, cu volumul şi agresivitatea sa, starea generală şi organică a pacientului, prezenţa complicaţiilor bolii, sensibilitatea terapeutică a tumorii, prognosticul la caz.

▪ Mielomul multiplu face parte din afecţiunile cu potenţial curabil redus. Astfel, scopul principal al tratamentului este de a asigura o durată de supravieţuire cât mai mare, cu o calitate a vieţii optimă. Astfel se vizează :

- o stoparea progresiei clonei maligne
- o tratamentul bolii osoase cu limitarea extensiei leziunilor distructive osoase şi prevenirea deformărilor şi fracturilor patologice
- o prevenirea şi tratamentul durerii, simptom central al bolii
- o tratamentul complicaţiilor

a) Răspuns terapeutic

▪ Nivelul componentei monoclonale din sânge şi/sau urină reprezintă un indicator al masei tumorale. Măsurarea periodică a nivelului componentei monoclonale permite monitorizarea variaţiilor masei tumorale şi astfel reprezintă metoda cea mai accesibilă de apreciere a răspunsului terapeutic la pacienţii cu MM.

▪ Sub tratament, componenta monoclonală scade până la un nivel la care rămâne stabilă – *faza de platou* – care semnifică starea de repaos a bolii.

▪ Obţinerea fazei de platou şi durata ei au o valoare prognostică.

▪ Remisiunea completă este definită prin dispariţia completă a componentei monoclonale la examinarea serului prin imunofixare, asociată cu un aspect normal al măduvei osoase.

▪ Absenţa scăderii proteinei monoclonale serice şi persistenţa proteinuriei Bence Jones sub tratament semnifică o formă rezistentă la tratament şi impune trecerea la o terapie de a doua linie.

b) Mijloace terapeutice

Radioterapia – cu un rol paliativ sau adjuvant, indicaţiile de elecţie sunt reprezentate de :

▪ leziunile osoase dureroase, rezistente la chimioterapie, cu scop antialgic – uneori ameliorarea simptomatologiei se instalează relativ rapid ;

▪ în fracturile patologice şi alte leziuni litice - pentru consolidare ;

▪ în leziunile tumorale compresive pe structuri de vecinătate - cum este cazul leziunilor vertebrale cu compresie medulară ;

▪ în plasmocitomul solitar;

▪ în formele extramedulare.

Chimioterapia

▪ Reprezintă tratamentul de elecţie pentru pacienţii cu MM, ţinând seama de faptul că, cel mai adesea, boala este sistemică.

▪ Trebuie trataţi :

- o pacienţii asimptomatici dar aflaţi în stadiul II – pentru prevenirea complicaţiilor
- o toţi pacienţii simptomatici, care prezintă complicaţii evolutive
- o pacienţii care au markeri de evolutivitate tumorală
- o toţi pacienţii cu afectare renală (aceasta poate fi reversibilă, sub tratament, la o mare parte dintre ei)

Tratamentul convenţional

- chimioterapia convenţională utilizând agenţi alkilanţi :

▪ *Melfalan (Melphalan, Alkeran)* - tratamentul standard al bolii a fost reprezentat de asocierea Melfalan + Prednison, denumită şi cura Alexanian

▪ *Ciclofosfamidă (Endoxan)* - agent alkilant, ca şi precedentul. Este eficace în tratamentul MM. Este mai toxic asupra celulelor în activitate. Se administrează în asociere cu Prednison.

▪ *Polichimioterapie* - asocierea de droguri citostatice în tratamentul MM a fost introdusă la începutul anilor '70. Cele mai utilizate asocieri au fost **VBMCP** (Vincristină, BCNU, Melfalan, Ciclofosfamidă, Prednison), **VMCP** (aceeaşi fără BCNU), **VBAP** (Vincristină, BCNU, Adriamicină, Prednison). Cura **VAD** (Vincristină, Adriamicină şi Dexmetazonă). Este utilă în special la pacienţii care au o grefă în perspectivă.

Corticosteroizi

- Corticosteroizii au fost introduşi în tratamentul MM de către Salmon. Ei pot fi utilizaţi ca agent terapeutic unic, sau (mai frecvent) în asociere cu agenţi citostatici. Corticoizii sunt eficienţi în inducerea răspunsului terapeutic, chiar şi în cazurile refractare. Cel mai folosit este Dexmetazona.

Agenţi antiangiogenici de tipul Talidomidei

- *Talidomida* - Mecanismul său de acţiune, care îl recomandă şi pentru utilizarea sa în mielomul multiplu, este reprezentat de : efecte imunomodulatorii, prevenire a leziunilor ADN induse de radicalii liberi, suprimare a angiogenezei, stimulare a efectelor citotoxice mediate celular. Este utilizată în monoterapie sau în asociere cu citostatice. Cele mai utilizate asocieri sunt cu Melfalan şi Prednison/Dexmetazonă (MPT/MDT) sau cu Dexmetazonă (TalDex). Efectele secundare antrenate de Talidomidă sunt : sedarea, astenia, constipaţia, rash cutanat, neuropatie periferică, accidente trombotice şi tromboembolice. Doze – 100-200 mg/zi.
- *Lenalidomida (Revlimid)* - reprezintă un nou agent imunomodulator, mult mai puternic decat talidomida, eficace în mielomul multiplu atât în studiile preclinice, cât şi în cele clinice. Dozele standard sunt de 25 mg/zi 21 zile/lună.

Inhibitori de proteazom

Calea proteazomului

Reprezintă un complex enzimatic intracelular care degradează proteinele ubiquitinate care controlează ciclul celular şi procesele celulare care menţin homeostazia celulară. Inhibiţia reversibilă a proteazomului alterează căile care susţin creşterea celulară, scăzând astfel supravieţuirea celulelor neoplazice.

- *Bortezomib (Velcade)*, denumit anterior PS-341, reprezintă primul inhibitor de proteazom utilizat cu rezultate favorabile în terapia mielomului. Efectele adverse comunicate sunt : manifestări gastro-intestinale, astenie, citopenii, neuropatie periferică, uneori severă (la 30% dintre pacienţi). In prezent, este utilizat în terapia de primă linie mai ales la pacienţii candidaţi la auto-transplant.
- *Carlfizomib (kyprolis)* – inhibitor de proteazom cu activităţi antiproliferative şi proapoptotice *in vitro* şi în tumorile solide şi hematogene. Este indicat în monoterapie sau asociat cu dexametazonă şi lenalidomidă la pacienţii cu mielom recăzut sau refractar la cel puţin o linie terapeutică.
- *Ixazomib (Ninlaro)* – inhibitor reversibil de proteazom, ce se leagă preferenţial şi inhibă activitatea chemotripsinică a subunităţii beta 5 a proteazomului 20S. Este indicat în combinaţie cu lenalidomida şi dexametazona la pacienţii cu MM de linia II-a.

Anticorpi monoclonali

- *Elotuzumab* – anticorp monoclonal umanizat IgG1, care ţinteşte specific proteina SLAMF7 (*signaling lymphocytic activation molecule family member 7*). SLAMF7 este exprimată pe celulele mielomatoase, NK şi plasmocite. Facilitează interacţiunea cu celulele NK pentru a media uciderea celulelor mielomatoase prin intermediul citotoxicităţii dependente de anticorp. Este indicat în combinaţie cu lenalidomida şi dexametazona la pacienţii recăzuţi după 1-3 linii terapeutice.
- *Daratumumab* – anticorp monoclonal ce se leagă la CD38, intens exprimat pe suprafaţa celulelor mielomatoase. Este indicat la pacienţii cu MM care au primit cel puţin 3 linii terapeutice, în asociere cu un inhibitor de proteazom şi un agent imunomodulator.

Transplantul de celule suşă hematopoietice

a) Autografa de celule suşă hematopoietice

- Autografa utilizează celule suşă medulare sau periferice recoltate de la pacient într-un moment de remisiune. Are avantajul de a evita limitarea pusă de găsirea unui donator potenţial din cazul allografei.
- Răspunsul este superior la cei trataţi cât mai precoce după diagnostic, puţin pretrataţi şi cu un status general mai bun (0 - 1 OMS).
- Autotransplantul poate fi utilizat ca terapie de primă intenţie sau utilizat cu ocazia primei recăderi după răspunsul obţinut post-chimioterapie în doze standard.
- O nouă strategie este cea a dublei grefe, fie o dublă autografă, fie situaţii în care prima este autografă urmată de o allografă.

b) Allografa

- Allografa utilizează un grefon (măduvă osoasă sau celule suşă periferice obţinute prin citaferează) de la un donator, compatibil HLA. Principalii candidaţi la donare fac parte din fratrie.
- Date fiind vârsta pacienţilor şi şansa de a avea un donator, numărul celor tratabili în acest mod este redus (5-10%).
- Allografa antrenează o morbiditate şi mortalitate crescute, datorită reacţiei grefă contra gazdă, dar poate antrena o ameliorare a răspunsului, datorită efectului grefă contra boală. Rata mortalităţii variază între 15 şi 30%, în funcţie de centrul de transplant.

c) Strategia terapeutică

Utilizând criteriile recomandate de Grupul Internaţional de Studiu al mielomului, pacienţii cu mielom sunt grupaţi în cei cu formă simptomatică şi cei cu formă asimptomatică.

➢ Pacienţii care sunt asimptomatici şi care nu au afectare organic, nu trebuie trataţi până în momentul în care boala nu progresează, fapt susţinut de apariţia de noi leziuni osoase la examenele imagistice, de apariţia hipercalcemiei, anemiei sau creşterii nivelului seric al proteinei monoclonale. Pentru a fi sigur de necesitatea iniţierii terapiei, poate fi necesară o perioadă suplimentară de 6-8 săptămâni de supraveghere a pic-ului monoclonal.

➢ Pacienţii cu boală simptomatică sunt destinaţi terapiei. Pentru aceştia există suficiente argumente, bazate pe studii randomizate, în favoarea chimioterapiei în doze mari susţinute de grefa de celule suşă hematopoietice faţă de chimioterapia în doze standard. Terapia intensivă asigură o rată superioară a răspunsurilor complete şi o prelungire a supravieţuirii globale şi fără boală. Totuşi, ţinând cont de anumite criterii la diagnostic precum vârsta, statusul performant, bolile asociate, factorii de prognostic, unii din aceşti pacienţi vor avea ca indicaţie terapeutică de primă linie grefa de celule stem hematopoietice, în timp ce ceilalţi vor primi numai chimioterapie standard. Tipul de tratament care se iniţiază la pacienţii simptomatici depinde de eligibilitatea pentru grefă.

- Pacienţii candiaţi la autografă vor primi
  - bortezomib/dexametazonă
  - bortezomib/ciclofosfamidă/dexametazonă
- Pacienţii necandiaţi la autografă vor primi
  - bortezomib/lenalidomidă/dexametazonă
  - lenalidomidă/doze mici dexametazonă
  - melfalan/prednison/bortezomib (MPB)
  - melfalan/prednison/lenalidomidă (MPL)
  - Melfalan/prednison/talidomida (MPT)

d) Tratamentul complicaţiilor bolii

1. Hipercalcemia

Survine la aproximativ 30% dintre pacienţii cu MM. Tratamentul este de urgenţă datorită riscului de apariţie a insuficienţei renale şi a tulburărilor electrolitice. Se impun următoarele măsuri :

- corectarea deshidratării prin perfuzii cu ser glucozat izotonic sau fiziologic (de preferat) pentru a permite o diureză cotidiană de minimum 2.000 ml. Diureza antrenează creşterea eliminării sodiului şi, în consecinţă, a calciului;
- la cei cu diureza scăzută sub rehidratare se vor utiliza diuretice : Furosemid 40-80 mg la două ore, în funcţie de diureză şi sub controlul ionogramei;
- qdministrarea de corticoizi Prednison 60-90 mg/zi, p.o. sau doza corespunzătoare de preparat injectabil. Răspunsul este rapid datorită scăderii absorbţiei intestinale a calciului, inhibării activităţii osteoclastelor, controlului asupra celulelor tumorale;
- instituirea rapidă a chimioterapiei la cei încă netrataţi sau aflaţi la distanţă de ultima cură;
- administrarea de bifosfonate (se leagă la hidroxiapatita din os; inhibând dizolvarea cristalelor, inhibă funcţia osteoclastică, reduce viabilitatea osteoclastică) :
  - **Etidronat** 7,5 mg/kg i.v. în 4 ore, timp de 3-7 zile
  - **Clodronat** 300 – 600 mg/zi, i.v. timp de 3-6 zile sau per os 800-3.200 mg/zi
  - **Pamidronat** (cel mai activ bifosfonat, indicat în hipercalcemiile maligne) se administrează 30-90 mg în perfuzie cu ser fiziologic timp de 3 ore. (Toate aceste preparate pot fi administrate p.o. în scop preventiv)

  - **Acid zolendronic (zometa)** 4 mg iv o dată pe lună
- Calcitonina 4 u/kg la fiecare 12 ore - scade absorbţia intestinală şi creşte eliminarea renală a calciului. Se administrează în asociere cu corticoizii.

2. Durerea

Este simptomul dominant al tabloului clinic la aceşti pacienţi. Apare la peste 80% din pacienţi şi se datorează adesea afectării osoase. Controlul durerii este un proces strict individualizat. Recomandări :

- mobilizarea pe cât posibil a pacienţilor
- utilizarea unui analgezic corespunzător intensităţii durerii
- utilizarea la debut a unor antalgice uzuale ca paracetamolul sau antiinflamatoriile nesteroidiene. Acestea sunt contraindicate în caz de trombocitopenie. In cazul în care sunt insuficiente, se va recurge la antalgice mai potente : codeină 2-4 cp/zi, morfină sub formă orală sau injectabilă, mialgin
- corticoizii sunt utili în tratarea durerilor provocate de leziunile osteolitice; în acelaşi context sunt utile bifosfonatele
- antidepresoarele triciclice sunt indicate în calmarea durerilor de etiologie neuropată (amitriptilină 50-150 mg)
- analgezicele trebuie administrate cu regularitate, după o schemă orară, şi nu "on demand"
- se vor prefera analgezicele orale
- se va acorda atenţie efectelor secundare ale analgezicelor pentru a fi rezolvate în timp util
- se va avea în vedere asocierea de droguri non-analgezice (ca antidepresoarele, carbamazepina, gabapentina) în caz de necesitate
- radioterapia locală poate ameliora rapid dureri rezistente la antialgicele uzuale şi morfinice. Se pot utiliza doze scăzute, adesea 8 Gy, fracţionate sau în doză unică, cu aceeaşi eficacitate. Leziunile mielomatoase sunt la fel de radiosensibile ca orice tip de metastaze osoase.

3. Hiperuricemia

Impune hidratare (minimum 2.000 ml/zi în cursul tratamentului), alcalinizarea urinelor (utilizarea serului bicarbonat în doze de 200-400 ml/zi) şi administrarea de Allopurinol 200-400 mg.

4. Hipervâscozitatea

Impune realizarea de plasmafereze (cu schimbarea a 2-4 litri de plasmă la două săptămâni), asociată cu chimioterapie (efect de lungă durată).

5. Insuficienţa renală

Afectarea funcţiei renale este prezentă la peste 30% din pacienţi la diagnostic. Afectarea renală este mai uşor de prevenit decât de tratat. Pentru prevenţie, se impune :

- tratarea rapidă a oricărei infecţii urinare
- plasmafereza în caz de necesitate
- hidratarea corectă (de minimum 3.000 ml/zi) sub tratament şi, în afara lui, cu diureză alcalină

- tratamentul prompt al hipercalcemiei
- demararea terapiei specifice, cât mai rapid, pentru reducerea proteinei monoclonale
- evitarea drogurilor nefrotoxice.

La pacienţii cu afectare majoră, se preferă terapiile de tip VAD sau Dexmetazonă în monoterapie, care nu sunt influenţate de clearance renal şi au eficacitate rapidă.

6. Infecţiile

Infecţiile reprezintă o complicaţie majoră la pacienţii cu mielom. Infecţiile sunt mai frecvente în perioadele de activitate a bolii, în primele 3 luni de tratament şi în caz de recădere. Orice episod febril la un pacient cu mielom trebuie considerat în context infecţios. Apariţia infecţiilor impune tratamentul prompt, cu asociere de antibiotice sau terapie corespunzătoare germenului cauzal. Vor fi evitate aminoglicozidele.

7. Complicaţiile osoase

Prevenirea leziunilor (demineralizarea) şi complicaţiilor osoase impune :

- mobilizarea frecventă - imobilizarea prelungită antrenează demineralizare şi hipercalcemie
- evitarea traumatismelor de orice natură care pot determina fracturi pe os patologic
- utilizarea mijloacelor ortopedice de contenţie (ex. corsetul) în cazul unor leziuni litice mari ce pot favoriza complicaţii majore (ex. tasare vertebrală cu protruzie anterioară şi compresie medulară).
- pentru instabilitatea vertebrală cu risc de colaps complicat de durere şi posibilă compresiune nervoasă, se impune adresarea rapidă în servicii de neurochirurgie sau ortopedie. Se poate recurge la laminectomie de decompresiune şi la radioterapie locală. Sau se poate recurge la tehnici noi de vertebroplastie sau cifoplastie.

↳ Vertebroplastia implică injectarea percutană, sub anestezie locală şi ecran radiologic, de polimeta-acrilat sau material biologic echivalent, în corpul vertebral afectat. Acest lucru antrenează calmarea durerii, solidarizarea vertebrei fără, însă, a reface înălţimea vertebrei. Pot fi tratate mai multe vertebre odată.

↳ Cifoplastia – implică inserţia unui mic balon gonflabil în corpul vertebrei afectate. Se umflă balonul cu refacerea volumului vertebral, apoi se extrage şi se injectează ciment în cavitatea creată.

- Durerea osoasă poate fi calmată prin iradiere locală cu o doză de 8 Gy.
- Fractura oaselor lungi impune stabilizare ortopedică, urmată de o iradiere unică cu 8 Gy.
- Administrarea de bifosfonate
- Utilizarea cronică de fluoraţi (Ossin) în asociere cu carbonat de calciu poate pozitiva balanţa calcică cu remineralizarea osoasă şi diminuarea durerilor osoase.

8. Compresiunea medulară

Se poate instala treptat sau brutal, ca urmare a dezvoltării intrarahidiene a unui plasmocitom vertebral sau prin fractura sau tasarea vertebrală cu deplasare anterioară. Diagnosticul va fi stabilit de CT sau RMN, sau mielografe. In primul caz, se impune

intervenţia de urgenţă cu laminectomie de necesitate şi corticoizi în doze mari (Dexmetazonă 8 mg la 6 ore). Se va asocia şi radioterapia locală, în doze totale de 30 Gy, cu rezultate bune. In a doua situaţie, se impune laminectomia de necesitate şi terapia de reconstrucţie osoasă a peretelui posterior.

9. Anemia

Anemia se asociază la aproximativ 65% dintre pacienţii cu mielom. Valoarea mediană a hemoglobinei este de 10,5 g/dl. Anemia este favorizată de terapia bolii, dar nu trebuie uitate şi alte cauze asóciate, precum deficitul de fier, acid folic, vitamina B12, hipotiroidism.

Anemia la pacienţii cu mielom reprezintă o indicaţie de elecţie pentru tratamentul cu Eritropoietină. Utilizarea acesteia impune câteva reguli :

- eliminarea de la început a unor cauze reversibile ale anemiei – deficitul de fier, vitaminic
- terapia cu EPO este indicată la pacienţii sub chimioterapie, cu anemie manifestă
- în caz de anemie severă, prost tolerată, se pot asocia transfuzii cu masă eritrocitară până la dispariţia simptomelor.

SINDROAME HEMORAGIPARE

PURPURELE VASCULARE

Purpurele vasculare sunt afecţiuni aparţinând patologiei hemostazei primare şi se datorează unui deficit funcţional sau structural al peretelui vascular, în timp ce trombocitele şi cei doi factori ai coagulării implicaţi (factorul Willebrand şi fibrinogenul) sunt normali.

Clinică

Purpura este un sindrom clinic caracterizat prin prezenţa de pete hemoragice roşii-violacee care nu dispar la vitropresiune, nedureroase, datorate extravazării, aparent spontane, a sângelui în tegumente şi mucoase. Ele pot evolua în pusee şi dispar în câteva zile cu modificări de culoare în funcţie de degradarea hemoglobinei (roşu-violaceu - verde - galben).

Sunt descrise cinci tipuri de purpure :

- peteşială - pete purpurice mici, rotunde, bine delimitate ;
- echimotică - pete hemoragice mai mari, cu contur mai imprecis ;
- vibicii - purpură lineară situată la nivelul pliurilor de flexie ;
- nodulară - purpură de tip infiltrativ ;
- necrotică - peteşii sau echimoze cu zone de necroză.

Purpurele vasculare sunt adesea peteşiale, uneori infiltrate (caracter papulos la palpare) şi, spre deosebire de cele trombopenice, nu asociază (decât foarte rar) hemoragii mucoase. Originea vasculară este adesea sugerată de caracterul lor mecanic : apariţia în zone de cliv - membre inferioare, abdomen, dar şi pe faţa de extensie a membrelor superioare, în jurul coatelor - sunt accentuate de ortostatism, evoluează în pusee.

Laborator

- numărătoarea trombocitelor este normală ;
- adezivitatea şi agregabilitatea plachetară sunt normale ;
- coagularea - timp de coagulare, timp Quick, timp de trombină, dozare a fibrinogenului - este normală ;
- testul Rumpell-Leede este pozitiv : peste 5 peteşii după o depresiune de un minut.

Diagnostic diferenţial

- angioame – leziuni dobândite (ciroză, sarcină) sau congenitale – cu aspect particular, dispar la vitropresiune
- pete rubinii - angioame nodulare roşii, rubinii
- telangiectazii
- purpure trombocitopenice
- purpure trombopatice

Prognostic

Purpurele vasculare sunt localizate de obicei la nivelul tegumentelor şi astfel nu antrenează un risc hemoragic, dar ele pot prezenta semnul de debut al unor patologii cu gravitate variabilă (şoc toxico-septic, neoplazii, colagenoze).

Etiopatogenie

Se disting, din acest punct de vedere, mai multe tipuri de purpure vasculare :

❖ *purpurele vasculare imunologice* sunt caracterizate printr-o vascularită datorată depunerii de complexe imune circulante, conducând la inflamaţia şi necroza peretelui vascular (după activarea complementului, PN sunt atrase în focar cu eliberarea de enzime lizozomale, responsabile de leziuni) ;

❖ *purpurele vasculare infecţioase* pot avea un mecanism mixt : lezarea directă a peretelui vascular de către agentul infecţios sau toxinele sale sau prin depunerea de complexe imune care conţin antigen aparţinând agentului infecţios ;

❖ *purpurele vasculare legate de o fragilitate capilară* constituţională sau dobândită.

***Tabel* 45**

Purpure vasculare - tipuri etiologice
I. Purpure vasculare autoimmune
▪ Purpure alergice : - purpura reumatoidă Schoenlein-Henoch ▪ Purpure vasculare medicamentoase : atropină, aspirină, ampicilină, antivitamine K, chinină, barbiturice, fenacetină, fenilbutazonă, sulfonamide ... ▪ Purpura fulminans
II. Purpure vasculare infecţioase
▪ Bacteriene (meningococ, septicemii, febra tifoidă, scarlatină, difterie, tuberculoză, endocardite, leptospiroze) ▪ Virale (gripă, rujeolă, rubeolă, varicelă ...) ▪ Rickettsiene ▪ Protozoare (malarie, toxoplasmoză)
III. Purpure vasculare prin malformaţii structurale
▪ Telangiectazia hemoragică ereditară ▪ Fragilitatea capilară ereditară : sdr Ehlers-Danlos, boala Marfan, osteogeneza ▪ imperfectă, *pseudoxantoma elasticum* ▪ Fragilitatea capilară dobîndită : scorbut, purpura senilă, corticoterapie prelungită, boala Cushing, diabet, purpură caşectică
IV. Purpure vasculare de etiologie mixtă
▪ Purpura prin autosensibilizare la hematii şi sdr înrudite : hipersensibilitate la ADN, purpură psihogenă, sângerări vicariante ▪ Paraproteinemii : purpură hiperimunoglobulinemică primitivă, purpură crioglobulinemică, purpură hiperglobulinemică din ciroză, sarcoidoză ▪ Purpura ortostatică, purpura mecanică ▪ Purpure dermatologice : angiom serpiginos, boala Schamberg, dermatită pigmentară cu lichenificare, purpură anulară telangiectazică

PURPURA REUMATOIDA (HENOCH – SCHONLEIN)

Purpura reumatoidă reprezintă o purpură vasculară consecutivă unui conflict imunologic cu punct de impact la nivelul endoteliului vascular. Se caracterizează în plan histologic printr-o vascularită difuză cu depozite de IgA în pereţii vasculari şi în mezangiul glomerular. Se manifestă prin tetrada : dureri abdominale colicative, nefrită, artrită şi purpură peteşială.

Boala poate surveni la orice vârstă, dar predomină la copil (preferinţă masculină), cu un vârf al incidenţei între 4 şi 11 ani, şi la adultul tânăr (preferinţă feminină). S-a observat o variaţie sezonieră cu incidenţa maximă a cazurilor în cursul iernii.

Clinică

Debutul este adesea precedat de un episod infecţios al căilor aeriene superioare şi este adesea de tip acut. Tabloul clinic asociază febră, semne cutanate, digestive, articulare şi renale, concomitent sau decalat, cu evoluţie în pusee :

❖ *atingere cutanată* :

- purpură peteşială sau nodulară, adesea precedată de o erupţie urticariană ;
- purpura are o dispunere declivă (membrele inferioare, în jurul marilor articulaţii, fese, faţa posterioară a coatelor), bilaterală, simetrică, favorizată de ortostatism şi evoluţie în pusee. Faţa şi trunchiul sunt rareori afectate ;
- poate asocia edem al feţei, pielii scalpului, faţa dorsală a mâinii şi picioarelor ;
- nu asociază şi alte semne hemoragice.

❖ *atingere articulară :*

- dureri asociate eventual cu edem periarticular la nivelul marilor articulaţii ale membrelor inferioare, mobile, fugace, fără să lase sechele. Survin în 40% din cazuri.

❖ *atingere abdominală* **:**

- de gravitate variabilă : de la colici abdominale până la dureri pseudo-chirurgicale cu intoleranţă alimentară şi vărsături ;
- poate asocia melenă, hematemeză, invaginaţie intestinală acută, perforaţii ;
- durează câteva zile;

❖ *atingere renală* :

- prezentă în 30% din cazuri ;
- apare chiar de la debut sau în următoarele 2-3 luni ;
- se poate manifesta prin hematurie izolată (micro- sau macroscopică) sau asociată cu o proteinurie, uneori importantă, antrenând un sindrom nefrotic, cu posibilă evoluţie spre un tablou de insuficienţă renală moderată ;
- uneori se pot asocia şi valori tensionale crescute, izolat sau asociate cu semne urinare ;
- în plan histologic, atingerea poate prezenta patru tablouri lezionale :
  - glomerulonefrita mezangiopatică ;
  - glomerulonefrita segmentară şi focală ;
  - glomerulonefrita proliferativă endocapilară difuză ;
  - glomerulonefrita proliferativă endo- şi extra-capilară.

❖ *alte atingeri* : testiculară, hemoragii pulmonare, SNC (cefalee, convulsii, tulburări de comportament, hemiplegie), musculare, miocardice, pancreatice, ureterale, vezicale (cu hematurii importante).

Examene de laborator

- testele de hemostază sunt normale cu excepţia unui test Rumpell-Leede pozitiv;
- sindromul inflamator este prezent : VSH accelerat, hiper-alfa-2 si gammaglobulinemie, hiperleucocitoză cu creşterea numărului neutrofilelor ;
- creşterea IgG, uneori IgM, creşterea IgA în 50% din cazuri ;
- bilanţul funcţiei renale se realizează sistematic pentru căutarea hematuriei, proteinuriei, eventual semne de insuficienţă renală;
- biopsia cutanată arată o vascularită leucocitoclazică la nivelul vaselor mici din derm, cu acumularea de celule inflamatorii (polinucleare, limfocite şi monocite) perivascular, iar în imunofluorescenţă se evidenţiază depozite de IgA, C3 şi fibrinogen în peretele aceloraşi vase.

Evoluţie şi prognostic

- Evoluţia este în general favorabilă, fără complicaţii renale sau digestive, dar, uneori, este posibilă evoluţia în pusee cu recăderi. Durata primului atac este de aproximativ 3-4 săptămâni. Recăderile pot apărea după un interval de 6 săptămâni.
- Complicaţiile evolutive pot fi renale sau digestive (au fost menţionate la capitolul respectiv).
- Prognosticul pe termen lung este dat exclusiv de atingerea renală şi, de aceea, se impune supravegherea renală, inclusiv un examen bioptic în formele grave.

Tratament

a) Tratamentul atingerilor extrarenale **:**

- antialgice în durerile articulare sau abdominale ;
- în durerile abdominale severe şi pentru prevenirea invaginaţiilor intestinale - se recomandă corticoizi în doze de 1-2 mg/kg/zi 2-3 săptămâni şi eventual alimentaţie parenterală.

b) Tratamentul atingerilor renale impune **:**

- repaos la pat, ortostatismul favorizând puseele evolutive ;
- tratament antihipertensiv în caz de valori TA crescute ;
- perfuzii cu albumină în caz de sindrom nefrotic major ;
- în atingerile renale severe, se asociază corticoterapie : Metilprednisolon 1 g x 3 la 48 de ore interval, urmat de Prednison 1 mg/kg/zi timp de o lună, apoi 1 mg/kg la două zile, urmat de scădere în trepte, etalată pe un interval de 3-4 luni ;
- în formele foarte severe, se pot asocia Ciclofosfamidă (Endoxan) şi schimburi plasmatice (plasmafereză).

TELANGIECTAZIA HEMORAGICĂ EREDITARĂ (BOALA RENDU OSLER)

Malformaţie vasculară congenitală, cu transmitere dominant autozomală, caracterizată prin subţierea peretelui vascular, diminuarea suportului vascular şi scăderea contractilităţii. Vasele afectate (la nivelul tegumentelor şi mucoaselor) devin dilatate, sinuoase şi dezorganizate, cu sângerări spontane şi la traumatisme minore datorită fragilităţii lor.

Prevalenţa bolii variază între 1/50.000 şi 1/16.000.

Studiile genetice au evidenţiat defectul la nivelul cromosomului 9q33-34 unde se află gena codantă pentru endoglină. Aceasta este o glicoproteină membranară exprimată pe celulele endoteliale din arteriole, venule şi capilare şi este un receptor pentru TGF-beta.

Diagnosticul aste sugerat de asocierea : caracter ereditar, prezenţa telangiectaziilor şi tendinţa la sângerări.

Telangiectaziile au dimensiuni de la un vârf de ac la 3 mm cu aspect de pete roşii sau purpurii, rotunde, bine delimitate, ce dispar la vitropresiune, uneori cu aspect de păianjen (mai ales la cei mai în vârstă - apar în jur de 40 ani şi numărul lor creşte cu vârsta). Au o dispoziţie caracteristică la nivelul feţei, buzelor, limbii, urechilor, conjunctivelor, palmelor, pulpelor degetelor, plantelor. Sunt prezente la nivelul mucoaselor digestivă, nazală, bronşică, laringiană, genitală.

Manifestările cele mai frecvente sunt hemoragiile şi anemia secundară, care pot precede apariţia telangiectaziilor tegumentare, creând probleme de diagnostic. Leziunile cutanate sunt mai puţin hemoragice. Hemoragii mai frecvente : epistaxis (90%), bucale, digestive (20%), hemoptizii, genito-urinare şi chiar cerebrale şi retiniene. Cu înaintarea în vârstă, leziunile devin mai numeroase şi mai extinse, iar hemoragiile pot creşte în frecvenţă.

Se pot asocia şi alte leziuni vasculare de tipul :

- fistule arterio-venoase pulmonare, ce survin la 5-30% dintre pacienţi. Sunt localizate predominant în lobii inferiori şi sunt multiple. În unele cazuri pot antrena un şunt dreapta-stânga cu dispnee, cianoză, astenie, fatigabilitate, poliglobulie. Se pot asocia hemoptizii şi infecţii recurente. Depistarea fistulelor poate fi dificilă. Se poate utiliza scannerul spiral sau determinarea saturaţiei în oxigen a sângelui arterial în poziţie şezândă şi în decubit dorsal (schimbările de poziţie pot antrena deschiderea şunturilor şi scăderea saturaţiei).
- fistule arterio-venoase retiniene
- fistule arterio-venoase cerebrale, hemangioame cavernoase, anevrisme cerebrale
- fistule arterio-venoase hepatice – uneori importante, cu şunt stânga-dreapta, cu afectare cardiacă prin flux crescut
- hemangioame hepatice, mediastinale
- anevrism disecant de aortă.

Testele de hemostază, ale coagulării şi testul Rumpell-Leede sunt nemodificate.

Tratament

Pentru sângerările cu punct de plecare accesibil, se va apela la un tratament hemostatic local, prin tamponamente cu geluri hemostatice, spray cu acid epsilon-aminocaproic, compresiune prin balonaş. Se poate încerca cauterizarea chimică sau electrică, dar noi leziuni apar ulterior în zona învecinată.

Pentru epistaxisul recidivant, se poate încerca dermoplastia septului.

Tratamentul sistemic cu estrogeni induce o metaplazie scuamoasă a epiteliului septului nazal ce protejează leziunile de traumatisme. În general, se folosesc doze zilnice de 0,25-1 mg etinil-estradiol. La bărbaţi, pentru evitarea efectelor secundare feminizante, se asociază metil-testosteron 2,5-5 mg/zi.

Fistulele arterio-venoase simptomatice, ca şi leziunile hemoragice la nivel gastric sau intestinal pot beneficia de o cură chirurgicală, dar cu posibilă recidivă.

Se va compensa deficitul în fier la cei cu anemie post-hemoragică cronică.

PURPURE TROMBOCITOPENICE

Termenul de purpură trombocitopenică defineşte un sindrom hemoragic ce asociază purpură şi trombocitopenie (definită ca o scădere a numărului plachetelor sub 150.000/mm^3).

Sindromul hemoragic din trombocitopenii se caracterizează prin anomalii ale hemostazei primare. Este un sindrom hemoragic cutaneo-mucos manifestat prin :

- purpură peteşială şi echimotică, predominant la membrele inferioare şi în zonele de frecare şi presiune ;
- hemoragii mucoase : gingivoragii, epistaxis, bule hemoragice bucale (semn sugestiv);
- hemoragii de secţiune cu sângerare prelungită la nivelul plăgilor accidentale, chirurgicale sau stomatologice ;
- menometroragii, hemoragii digestive, mai ales dacă sunt leziuni pre-existente ;
- hemoragii retiniene, cerebro-meningee (cele mai grave).

Gradul de severitate al sindromului hemoragic poate fi apreciat în funcţie de extinderea purpurei, existenţa bulelor hemoragice la nivelul cavităţii bucale, repetarea epistaxisului şi prezenţa hemoragiilor retiniene la examinarea fundului de ochi.

Apariţia sindromul hemoragic nu este constantă şi severitatea sa nu este strict corelată cu cifra plachetară. În general, se apreciază că, între 50.000-100.000 trombocite pe mm^3, sângerările survin în contextul unei cauze adăugate (sindrom inflamator, infecţios, trombopatie asociată, anemie), ele putând fi spontane la sub 50.000/mm^3 şi mai ales sub 20.000/mm^3.

În plan biologic, testele hemostazei arată:

- trombocitopenie, de obicei sub 50.000/mm^3 ;
- timpul de sângerare alungit ;
- modificarea retractibilităţii cheagului ;

- testul Rumpell-Leede pozitiv ;
- testele de coagulare sunt normale.

***Tabel* 46 - Clasificarea etiologică a trombopeniilor**

Clasificarea etiologică a trombocitopeniilor
I. Trombopenii centrale (deficit de producţie)
1. Dobîndite primitive ▪ aplazii medulare ▪ dismielopoieză : sdr mielodisplazice, deficit în B12 şi acid folic
2. Dobîndite secundare ▪ toxice : diuretice, săruri de aur, estrogeni, Biseptol ▪ intoxicaţie alcoolică acută ▪ infecţie virală ▪ invadarea măduvei : leucemii acute, limfoame, mielom, metastaze
3. Constituţionale ▪ autosomal recesive : boala Fanconi, Bernard-Soulier, amegacariocitoză ▪ autosomal dominante : boala May-Hegglin ▪ gonosomal recesive : sdr Wiskott-Aldrich ▪ alte trombopenii familiale
II. Trombopenii periferice
1. Prin exces de distrugere ▪ mecanism autoimun - purpura trombopenică autoimună (idiopatică) - purpure în boli autoimune (LES) - purpure în sdr limfoproliferativ (LLC) ▪ mecanism imunoalergic medicamentos : fenilbutazonă, aspirină, rifampicină, heparine, sulfamide, chinidină ▪ prin alloimunizare : incompatibilitate feto-maternă, post-transfuzională ▪ virale : HIV, CMV, rujeolă, rubeolă, hepatită virală
2. Prin exces de consum ▪ coagularea intravasculară diseminată ▪ coagularea intravasculară localizată : hemangiom gigant ▪ microangiopatii difuze : sdr hemolitic-uremic, sdr Moscowitz ▪ septicemii, paludism ▪ mecanică : proteze valvulare
3. Prin tulburare de repartiţie ▪ hemoragii masive ▪ transfuzii masive de sînge conservat (diluţie) ▪ hipersplenism

Cauzele trombocitopeniilor : vezi ***tabelul 46***.

Patru mecanisme pot conduce la o trombocitopenie:

- diminuarea producţiei plachetare ;
- creşterea distrucţiei plachetare ;
- tulburarea repartiţiei cu stocare excesivă la nivel spenic ;
- diluţie prin aport transfuzional excesiv, mai ales cu sânge integral.

PURPURA TROMBOCITOPENICA AUTOIMUNĂ IDIOPATICA (P.T.I.)

INTRODUCERE

Purpura trombocitopenică autoimună se defineşte ca o trombocitopenie (adesea sub 60.000/mm^3) periferică, survenită prin hiperdistrucţie prematură datorată unor autoanticorpi antiplachetari sau unor complexe imune fixate pe membrana plachetară ce determină fagocitarea lor de către macrofage. Există două forme : una acută, care survine mai ales la copil, cu incidenţă egală la cele două sexe, şi o formă cronică, mai frecventă la adult, cu incidenţă mai mare la sexul feminin (3/1).

FIZIOPATOLOGIE

Mecanismul apariţiei de autoanticorpi este necunoscut. Se discută factori genetici, modificarea unor antigene de suprafaţă sub acţiune virală, dezechilibru între subpopulaţiile limfocitare.

Anticorpii antitrombocitari au fost identificaţi în marea majoritate a cazurilor la aceşti pacienţi. Anticorpii au fost puşi în evidenţă pe membrana trombocitară în 75% din cazuri şi în plasmă la 85% dintre pacienţi. Anticorpii identificaţi au fost de tip IgG şi IgA în majoritatea cazurilor (unii dintre pacienţi prezentând ambele tipuri) şi IgM în câteva cazuri, dar întotdeauna asociat cu celelalte clase.

Anticorpii acţionează, în majoritatea cazurilor, prin scurtarea duratei de viaţă a trombocitelor. Se fixează pe plachete şi favorizează fagocitarea acestora de către macrofage. Uneori, aceşti anticorpi au capacitatea de a se fixa pe megacariocite, conducând la o hipoplazie megacariocitară asociată. Rolul imunităţii mediate celular rămâne necunoscut în cazul PTI.

CLINICĂ

În plan clinic, boala se manifestă printr-un sindrom hemoragic constituit din :

- purpură peteşială şi echimotică extinsă în funcţie de gravitate, predominantă la membrele inferioare. Purpura peteşială are aspect strict macular, de culoare roşie-violacee, debutează la membrele inferioare şi se extinde în valuri putând cuprinde tot trunchiul. Se asociază leziuni echimotice care apar tot în valuri, putând avea o coloraţie variabilă în raport cu vârsta lor ;
- hemoragii mucoase cu gingivoragii, bule hemoragice la nivelul mucoasei bucale şi linguale (semn important în trombocitopenie), epistaxis, hemoptizii ;
- hemoragii de secţiune cu sângerare prelungită la nivelul punctiilor, plăgilor ;
- hemoragii genitale (meno-metroragii);
- hemoragii digestive pe leziuni preexistente ;
- hemoragii retiniene, cerebro-meningee (grave, antrenînd o mortalitate de 2-5%);
- în caz de hemoragii importante se asociază şi un sindrom anemic.

* Semn negativ : splina nu se palpează.

INVESTIGAŢII PARACLINICE

➢ ***Hemograma :***

- trombocitopenie, adesea importantă, sub 50.000/mm^3 cu anizocitoză plachetară şi prezenţa de megatrombocite (datorită hiperproducţiei medulare compensatorii cu citodiabază);
- trombocitopenia este în general izolată, dar poate asocia o anemie proporţională cu pierderile prin hemoragii.

➢ ***Mielograma*** - arată o măduvă cu celularitate normală, cu prezenţa de megacariocite în număr crescut, dintre care unele cu volum crescut, atestând originea periferică a trombocitopeniei. Rareori, numărul de megacariocite este scăzut datorită distrucţiei lor de către autoanticorpi şi/sau limfocite şi monocite.

➢ ***Bilanţul hemostazei arată*** **:**

- timpul de sângerare este prelungit ;
- retracţia cheagului este absentă sau alterată ;
- testul Rumpell-Leede poate fi pozitiv ;
- testele de coagulare sunt normale ;
- testele pentru CIVD sunt negative.

➢ ***Testele imunologice***

- testul Coombs plachetar direct şi indirect evidenţiază prezenţa de autoanticorpi antiplachetari pe trombocitele şi în serul pacientului (nu sunt indispensabile pentru diagnosic).

În ultimii ani, tot mai mulţi autori se pronunţă în favoarea introducerii în bilanţul iniţial al unei trombocitopenii pe de o parte a serologiilor virale, şi în special a serologiei pentru depistarea unei infecţii cu virusul imunodeficienţei umane (asociere frecventă HIV - trombocitopenie), pe de altă parte a unui bilanţ autoimun - Ac ani-ADN, anti-nucleari, Coombs eritrocitar -, pentru depistarea unei patologii autoimune mai largi.

EVOLUŢIE

Există două forme evolutive :

a) Forma acută - predomină la copii şi la tineri. Boala se instalează brusc, în plină stare de sănătate, cu fenomene hemoragice. Debutul este uneori precedat de un episod infecţios de tip viral. Sângerările sunt moderate la copii şi mai severe la adulţii cu această formă. Boala este autolimitativă, cu remisiuni spontane la 85-90% din cazuri, în câteva zile sau luni, cu o medie de 4-6 săptămâni. Splenomegalia este minoră şi este întâlnită în mai puţin de 10% din cazuri. Se observă vindecare în 80% din cazuri, cronicizare în restul.

b) Forma cronică - este mai frecventă la adulţi. Instalarea este insidioasă, progresivă, cu fenomene hemoragice uşor-moderate, cu evoluţie fluctuantă, în pusee de câteva zile-săptămâni. În perioada intercritică, plachetele pot urca la valori normale, dar adesea rămân

sub 100.000/mm^3. Remisiunile spontane sunt rare. În general, sunt incomplete, iar recăderile pot reapărea oricând.

DIAGNOSTIC POZITIV

Diagnosticul fiind unul de eliminare se bazează în mare parte pe criterii negative, dar şi câteva pozitive:

- confirmarea trombocitopeniei prin examinarea frotiurilor sanguine cu eliminarea pseudo-trombocitopeniilor, situaţii în care apar agregate trombocitare în prezenţa EDTA;
- absenţa antecedentelor infecţioase : infecţii evolutive, infecţie gripală, infecţie cu HIV, sindrom inflamator;
- absenţa utilizării de medicamente susceptibile de a antrena trombocitopenie;
- absenţa unei sarcini în curs (trombocitemia de sarcină);
- absenţa unei transfuzii recente (alloimunizare) ;
- absenţa de elemente sugestive pentru hipersplenism (+/- hepatopatie cronică);
- absenţa de schizocite sugerând o PTT;
- bilanţ de coagulare normal (coagulopatie de consum) ;
- serologii negative pentru hepatita B, C, HIV;
- negativitatea reacţiilor Coombs eritrocitare şi anticorpilor antinucleari (boli autoimune mai complexe);
- prezenţa în măduvă a unui număr normal sau crescut de megakariocite.

DIAGNOSTIC DIFERENŢIAL

Trebuie eliminate mai întâi purpurele vasculare (aspectul clinic, numărătoarea trombocitelor) şi falsele trombocitopenii datorate aglutinării plachetare *in vitro* în cazul prelevării sângelui pe EDTA, apoi trebuie eliminate toate celelalte cauze de trombocitopenie : centrale şi periferice. Diagnosticul se va baza pe antecedente, examenul clinic şi testele paraclinice. Mielograma este un examen foarte util pentru orientarea diagnosticului.

I. Mielograma este anormală : este vorba de o trombocitopenie de origine centrală, cu afectarea asociată a eritrocitelor şi leucocitelor : aplazie, leucemie, infiltrare medulară, toxice, radiaţii ...

II. Mielograma este normală : megacariocitele sunt în număr normal sau crecute - este vorba de o trombocitopenie periferică.

PROGNOSTIC

➢ factorii de risc pentru apariţia hemoragiilor cerebrale :

- extinderea purpurei, în special abdominal ;
- prezenţa de bule hemoragice bucale ;
- epistaxis, hematurie, hemoragii retiniene.

➢ factori de risc evolutiv :

- vârsta de peste 60 ani;

- instalarea recent şi brutală ;
- infecţii, intervenţie chirurgicală recentă ;
- trombocitopenie : sub 10.000, între 10.000 si 20.000, şi peste 20.000/mm^3.

TRATAMENT

1. Regim de viaţă :

➢ interzicerea sporturilor violente, expunerea prelungită la soare fără protecţie ;

➢ atenţie la medicamentele care pot interfera cu hemostaza : aspirina, anti-inflamatoriile nesteroidiene ;

➢ în caz de cefalee rebelă, va fi consultat medicul (risc hemoragic) ;

➢ controlul şi tratamentul valorilor tensionale crescute.

2. Modalităţi terapeutice :

- ***Corticoterapie***

➢ reprezintă tratamentul de primă intenţie (în lipsa contraindicaţiilor) ;

➢ are ca acţiune o depresie a activităţii fagocitelor mononucleate, împiedicarea fixării anticorpilor pe plachete şi o acţiune hemostatică directă, la nivelul peretelui vascular ;

➢ administrarea a 1 g/zi intravenos (Metilprednisolon/Solu-Medrol), timp de 3-4 zile, în formele acute la copil permite obţinerea unei remisiuni în 80% din cazuri ;

➢ la adult se foloseşte tratamentul oral cu 0,5 - 2 mg/kg/zi, timp de 3 săptămâni, apoi diminuarea în trepte cu 20 mg/zi pe săptămână, până la 40 mg/zi, ulterior cu 10 mg/zi pe săptămână, până la 20 mg/kg/zi, apoi cu 5 mg/zi săptămânal până la oprire. În aceste condiţii, se obţin remisiuni complete în 30% din cazuri şi parţiale în 15% ;

➢ eşecul se poate pronunţa doar după 3-4 săptămâni de tratament;

➢ ca efecte adverse pot apărea : manifestări cushingoide, retenţie hidrică, pirozis, miopatie, risc infecţios, insomnie, agitaţie psihomotorie, osteoporoză.

- ***Imunoglobulinele intravenoase***

➢ sunt indicate în formele hemoragice severe, rezistente la corticoterapie, în cazul când corticoizii sunt contraindicaţi şi când se impune o creştere rapidă a plachetelor (intervenţie chirurgicală, risc hemoragic major – vârsta > 60ani, semne clinice, patologii asociate);

➢ se administrează în doze de 0,4 mg/kg/zi, timp de 5 zile sau 1 mg/kg/zi două zile consecutiv, cu bune rezultate mai ales în formele acute, dar şi în cele cronice. Totuşi, la 75% din cei care au răspuns, trombocitele revin la valoarea pre-terapeutică în 3 - 4 săptămâni ;

➢ se poate repeta la 2-3 săptămâni cu o bună toleranţă ;

➢ ca efecte secundare : cefalee, dorsalgii, greaţă, febră, meningită aseptică.

- ***Splenectomie***

➢ permite suprimarea organului sediu principal de distrucţie plachetară, de sinteză a auto-anticorpilor şi cu rol în deficitul funcţiei limfocitelor T supresoare ;

➢ în general, nu se practică înainte de 6 luni de evoluţie, deoarece probabilitatea unei remisiuni spontane este foarte scăzută ; se poate practica în urgenţă, în caz de manifestări hemoragice severe, rezistente la tratamentele precedente;

➢ se practică profilaxia prin vaccinare anti-infecţioasă (anti-pneumococică); este contraindicată, din acest motiv, la copilul mic ;

➢ în caz de eşec, se va relua corticoterapia ce poate fi mai eficace decât preoperator.

- ***Danazol***

➢ androgen de sinteză ce se administrează în doze de 400-800 mg/zi cu răspuns în 45-50% din cazuri;

➢ răspunsul este lent, în 1 până la 6 săptămâni, încât tratamentul se va administra trei până la patru luni, apoi se diminuează lent, pînă la doza de întreţinere de 50-200 mg/zi;

➢ în prima lună de tratament, se indică asocierea de corticoizi, cu efect sinergic ;

➢ se utilizează de preferinţă în formele cronice, la femei în vârstă ;

➢ este contraindicat la copil şi în cursul sarcinii, impune prudenţă la femeia tânără.

- ***Anti - D***

➢ tratament propus în locul imunoglobulinelor la pacienţii Rh+ ;

➢ determină o saturaţie a macrofagelor ca în cazul imunoglobulinelor ;

➢ se administrează în perfuzie 13 micrograme/kg în 30 minute, 3 zile consecutiv; în caz de absenţa răspunsului (Tr < 50.000/mm^3) peste o săptămână, se mai administreză încă trei zile ;

➢ răspunsul este lent şi tranzitoriu.

- ***Tratament imunosupresor***

➢ *Vinblastină* 5-10 mg sau *Vincristină* 1-2 mg intravenos, o dată pe săptămână timp de patru săptămâni (3-6), cu un răspuns complet în 15% din cazuri. Prezintă ca efecte secundare : neutropenie, neuropatie periferică, constipaţie. Sunt rezervate formelor cronice, mai ales după eşecul splenectomiei.

➢ *Azatioprina (Imurel)* este utilizată în doze de 1-4 mg/kg/j oral sau

➢ *Ciclofosfamida(Endoxan)* 300-600 mg/m^2 în perfuzie, o dată la 2-3 săptămâni sau 1-2 mg/kg/zi, p.o., ambele asociate cu corticoizi. În caz de rezultat pozitiv (10-20%), acesta este maximal în 2-6 luni, iar tratamentul se continuă până la maximum 10-20 luni. Unele studii au evidenţiat răspunsuri favorabile în terapia în pulsuri cu Ciclofosfamidă în doze de 1.000 – 1.500 mg/m^2 o dată la 4 săptămâni, timp de patru administrări;

➢ *Polichimioterapia* – CVP :Ciclofosfamida 1.000 mg/m^2 în ziua 1, Vincristina 2 mg în ziua 1 şi Metilprednisolon 1.000 mg/zi în zilele 1, 2 şi 3. Se repetă la 3-4 săptămâni de 4-6 ori.

- ***Alte tratamente*** – utilizate în cadrul unor studii dar nu pe scară mai largă:

➢ *ciclosporină* : 4-10 mg/kg/zi ;

➢ *interferon alfa* : 3 milioane de unităţi de trei ori pe săptămână în subcutan ;

➢ *dapsonă* : 100 mg/zi ;

➢ *colchicină* – a fost utilizat datorită asemănărilor farmacologice cu alkaloizii de Vinca, dar fără toxicitatea lor. A determinat câteva răspunsuri parţiale ;

➢ *vitamina C*

➢ *2 clorodeoxiadenozină (Cladribină)* – a dat câteva rezultate, dar nu persistente;

➢ *rituximab* – anticorp monoclonal anti-CD20, acţionând ca imunosupresor, a antrenat 60% răspunsuri pe loturi mici de pacienţi;

➢ *Eltrombopag şi Romiplostim* – antagonişti ai receptorilor de trombopoietină (TPO).

• ***Transfuziile plachetare*** sunt indicate doar în caz de fenomene hemoragice rezistente la tratament, în caz de suspiciune de complicaţie cerebrală sau intervenţie chirurgicală.

• ***Plasmaferezele*** cu imunoadsorbţie permit ascensiuni plachetare rapide, dar temporare.

3. Strategia terapeutică presupune :

⇨ nu toţi pacienţii trombocitopenici necesită tratament : în general, se recomandă abstenţia terapeutică în caz că Tr sunt peste 30.000/mm^3 în absenţa manifestărilor hemoragice ; tratarea tuturor pacienţilor cu trombocitele sub 20.000-30.000/mm3 ;

⇨ indiferent de modul de prezentare la diagnostic, se va începe cu tratamente neagresive - corticoizi sau imunoglobuline, mai ales în formele mai grave şi cu risc hemoragic crescut;

⇨ în caz de eşec după trei luni de tratament, se încearcă un altul, la alegere, între Danazol (de evitat la femei tinere - risc virilizant) sau Vincristină, Vinblastină (de evitat la vârstnici);

⇨ în caz de alt eşec şi după cel puţin şase luni de la debut, se va practica splenectomia cu eventuala reutilizare a corticoizilor. Se pot utiliza corticoizi în doze mari : Dexmetazonă 40 mg/zi, 4 zile pe lună, timp de 6 cicluri ;

⇨ în ultimul rând, se va apela la Azatioprină sau Ciclofosfamidă, la cei cu eşecuri terapeutice, cifra plachetară prăbuşită sau cu sindrom hemoragic important ;

⇨ unii autori sunt de părere că trebuie apelat la splenectomie mai repede, înainte de cele şase luni. După eşecul corticoterapiei şi/sau Ig iv, ei recomandă practicarea splenectomiei. În caz de eşec, se va apela la imunosupresoare.

COAGULOPATIILE / HEMOFILIILE

Hemofilia este o boală hemoragică ereditară cu transmisie recesiv gonozomală (legată de cromosomul X). Boala se datorează unei anomalii moleculare a unei proteine cu rol în coagulare, denumită factor anti-hemofilic. Existenţa a doi factori anti-hemofilici A şi B ne permite să distingem două forme de hemofilie : A şi B. Prima reprezintă forma cea mai frecventă (80-85% din cazuri).

Boala este rară, fiind întâlnită la un băiat din 5.000, sau un caz la 10.000 de naşteri.

HEMOFILIA A

INTRODUCERE

Factorul VIII (anti-hemofilic A) este sintetizat în ficat (de către celulele sinusoidale). Există mai multe forme de factor VIII în sânge, toate formând un complex cu factorul Willebrand. Rezultă complexe multimerice – o moleculă de FVIII pentru 36 molecule de factor von Willebrand. Concentraţia lor este de 0,1 mg/l. Numai o mică parte din factorul VIII circulă liber. Factorul VIII joacă un rol de cofactor, accelerând procesul de activare a factorului X de către factorul IXa în prezenţa ionilor de calciu şi fosfolipidelor. Factorul VIII este activat de către trombină, forma activată având o acţiune coagulantă net superioară.

Proteina C activată de trombină, şi în prezenţa proteinei S, proteolizează factorul VIIIa inactivându-l.

Factorul IX (anti-hemofilic B) este un factor vitamină-K dependent, sintetizat de ficat. Este activat de complexul factor VIIa-factor tisular sau de către factorul XIa şi are rolul de a activa factorul X.

Genele codante pentru cei doi factori se află pe braţul lung al cromozomului X. Mutaţii sau deleţii la nivelul acestor gene vor determina deficite cantitative sau calitative ale unuia din factori, cu afectarea coagulării şi creşterea riscului hemoragic.

Gena codantă a factorului VIII face parte din grupul genelor « mari », ocupând 186 kilobaze (kb), şi se află localizată pe braţul lung al cromozomului X (Xq28). Douăzeci şi şase de exoni codează un ARN mesager de 9 kb care determină sinteza unei proteine de 2.351 amino-acizi.

ETIOPATOGENIE

Hemofilia A se poate datora unui deficit cantitativ al factorului VIII (deficit VIII:C şi VIII:Ag) sau unui deficit calitativ (deficit VIII:C cu VIII:Ag normal). Au fost evidenţiate mai multe tipuri de mutaţii ce pot antrena boala.

Modul de tansmisie este recesiv gonosomal. Boala este transmisă pe linie maternă (purtătoare a genei) şi se manifestă aproape exclusiv la băieţi. La femei, care au doi cromozomi X, anomalia unei singure gene este compensată de gena sănătoasă. Astfel, cel puţin teoretic, la purtătoare ar trebui să se sintetizeze 50% din factor. Boala poate fi manifestă, însă, şi la femei. Este vorba de :

➢ femei homozigote

➢ inactivarea precoce, în cursul embriogenezei, a ambilor cromozomi X, cu producerea unor cantităţi mici de factor VIII.

Există cazuri rare de hemofilii dobândite prin apariţia de anticorpi antifactor VIII.

CLINICĂ

Manifestările clinice ale bolii sunt variabile în funcţie de severitatea bolii (dată de importanţa deficitului în factor VIII) care determină şi momentul debutului.

Hemoragiile debutează rar la naştere, în formele severe debutează în general în momentul când copilul se mobilizează, iar în formele moderate debutul este tardiv, la adolescentă. Sindromul hemoragic se manifestă prin :

a. Hemoragii exteriorizate (rare) :

- plăgi cutanate cu hemoragii abundente, muşcături ale limbii, epistaxis ;
- hemoragii digestive : hematemeză, melenă, rectoragii ;
- hematurie : predominant renală, cu risc de formare de cheaguri antrenând colici renale ;
- hemoragii post-traumatice (traumatisme accidentale, puncţii venoase, extracţii dentare)

– se caracterizează prin apariţia tardivă faţă de momentul traumatismului (semn important –

hemostaza primară este eficientă, dar insuficientă pentru oprirea sângerării) şi sunt disproporţionate cantitativ cu intensitatea traumatismului.

b. Hemoragii neexteriorizate :

- *hemartroze* : reprezintă accidentul cel mai frecvent (70%). Survin la vârsta de 2-4 ani, sunt repetitive, favorizate de traumatisme minore. Afectează cu predominanţă gleznele, genunchii şi coatele şi, mai rar, şoldul, pumnii, umerii. Ele survin la traumatisme minore, uneori aparent spontan. Repetarea lor duce la apariţia :
  - *artropatiei hemofilice,* cu prezenţa cronică de lichid intra-articular, leziuni sinovale, cartilaginoase şi osoase, cu reducerea mişcărilor, atitudini vicioase şi amiotrofie, până la anchiloze. În ansamblu, pot antrena anchiloze articulare în poziţii vicioase cu handicap fizic major.
- *hematoamelor* : reprezintă aproximativ 30% din manifestările hemoragice. Ele pot fi :
  - ➢ *subcutanate* sau *submucoase* cu risc compresiv (baza limbii, retrofaringian, retroperitoneal, retro-orbitar, popliteu, canal carpian)
  - ➢ *ale lojelor musculare* (psoas, coapsă, antebraţ) cu risc compresiv pe pachetul neurovascular, cu leziuni sechelare ale nervilor periferici şi amiotrofie
  - ➢ *subperiostale*, *intraosoase* sau *intramusculare* recidivante, cu apariţia de pseudo-tumori hemofilice
  - ➢ *hematoame subcutanate* la nivelul trunchiului, cu risc extensiv (nu există structuri limitante), putând antrena anemie majoră (prin crearea unui al treilea sector)
  - ➢ *hematomul de psoas* este un accident sever. Poate antrena şoc sau paralizie crurală. Determină dureri inghinale, poziţie vicioasă şi impotenţă funcţională. Poate preta la confuzie cu hemartroza coxo-femurală sau cu apendicita acută (mai ales că poate asocia febră şi leucocitoză).
- *hemoragii ale SNC* : hemoragii intracraniene cu risc vital.

INVESTIGAŢII PARACLINICE

a) Teste de orientare :

- alungirea timpului de coagulare (timp de cefalină activată - TCA/timpul de tromboplastină parţial activată - aPTT) corectat după incubare cu plasmă normală. Este testul cheie, de pornire. Corecţia TCA/aPTT după amestec cu plasmă normală indică faptul că este vorba de un deficit în factor(i) al(i) coagulării în sângele pacientului, şi nu este vorba de prezenţa de heparină sau un anticoagulant circulant;
- hemostaza primară este normală : timp de sângerare, numărătoare de plachete;
- celelalte teste din bilanţul coagulării sunt normale: timpul Qiuck, timpul de trombină, fibrinogen.

b) Teste de confirmare :

- măsurarea concentraţiei plasmatice a factorului VIII:C. Se realizează printr-o metodă cronometrică apreciind activitatea coagulantă a moleculei sau metode cromogene. Testul constă în realizarea unui TCA pe plasma de cercetat diluată 1/10, în prezenţa unei plasme

conţinând toţi factorii coagulanţi cu excepţia factorului VIII:C. Deficitul marchează severitatea bolii :

- ➢ *hemofilie majoră* : factor antihemofilic sub 1% din valarea normală ;
- ➢ *hemofilie moderată* : factor antihemofilic între 1 si 5%;
- ➢ *hemofilie uşoară* : factor antihemofilic între 5 si 30%.

- măsurarea celorlalţi factori XI, XII, von Willebrand - sunt normali.

c) Teste complementare - se practică în mod sistematic înainte de orice tratament substitutiv :

- grupaj sanguin ABO si Rh, Kell ;
- căutare de aglutinine neregulate ;
- căutare de anticorpi anti-factori anti-hemofilici. Testul constă în amestecul în părţi egale al unei plasme reactiv, conţinând 100 UI/dl de factor VIII:C cu plasmă de la bolnav. Se incubează 2 h la bain-marie la 37^0C, apoi se realizează un TCA. Rezultatul se măsoară în unităţi Bethesda. O unitate corespunde la distrucţia cu 50% a puterii coagulante;
- serologie virală : hepatite, HIV.

DIAGNOSTIC DIFERENŢIAL

- cele două tipuri de hemofilie între ele ;
- hemofilie dobândită prin prezenţa de anticorpi circulanţi de tipul auto-anticorpi anti-VIII:C. Această situaţie poate surveni în post-partum, la femei vârstnice, în context de LES, sdr limfoproliferative cronice, post-terapeutic, la copii postinfecţios. Anticoagulantul se pune în evidenţă prin căutarea unei hipocoagulabilităţi induse de plasma pacientului asupra unei plasme de la un martor.
- boala Willebrand
  - hemoragii predominant cutaneo-mucoase ;
  - transmitere autosomală ;
  - alungire a timpului de sângerare asociată cu diminuare VIII:C;
  - diminuare a factorului von Willebrand;
- deficite congenitale ale altor factori (rare).

TRATAMENT

➢ pacientul cu hemofilie trebuie luat sub supravegherea unui serviciu specializat, trebuie educat să poarte asupra lui un act indicând boala şi primele gesturi în caz de accident hemoragic ;

➢ se recomandă un mod de viaţă care să evite şocurile şi traumatismele ;

➢ se recomandă consiliere profesională ;

➢ se contraindică administrarea de acid acetil salicilic şi alte medicamente ce interferează cu hemostaza ;

➢ injecţiile intramusculare sunt proscrise, se pot practica, eventual, injecţii subcutanate pe faţa externă a braţului, urmat de compresiune manuală şi pansament compresiv ;

➢ vaccinările se practică subcutan, ca mai sus. Se impune suplimentarea cu vaccinare contra virusurilor hepatitice A şi B ;

➢ orice recoltare sau injecţii intravenoase trebuie urmate de o compresiune locală de cel puţin 10 minute, urmate de un pansament compresiv pentru 48 ore.

Tratamentul este curativ şi preventiv.

Tratamentul curativ

Se va institui prompt, în primele 12 ore de la instalarea menifestărilor hemoragice, altfel există riscul instalării sechelelor (major după 48 ore). Tratamentul curativ reprezintă tratamentul accidentelor hemoragice prin corectarea anomaliei coagulării, injectând concentrate plasmatice ce conţin factorul antihemofilic deficitar. Se asigură astfel redresarea valorilor până în limite de siguranţă ce vor permite oprirea hemoragiei.

Preparate :

- sânge integral proaspăt, util mai ales în hemoragii mucoase, în caz de anemie severă, dar prezintă dezavantajul aportului unui volum mare pentru o concentraţie scăzută a VIII ;
- plasmă integrală proaspătă sau congelată ;
- plasmă antihemofilică liofilizată ;
- preparate bogate în factor VIII - au avantajul injectării unui volum redus :
  - crioprecipitat congelat - 5UI/ml
  - concentrat de factor VIII cu puritate intermediară - 20-30 UI/ml
  - concentrate de factor VIII izogrupate
  - concentrate de factor VIII cu înaltă puritate – obţinute prin cromatografie cu schimbători de ioni şi inactivare virală cu detergent-solvent, prin imunopurificare sau inginerie genetică (recombinante) ;
- preparate bogate în factor IX :
  - PPBS - conţine factor IX alături de ceilalţi factori dependenţi de Vitamina K
  - concentrate de factor IX cu înaltă puritate;
- preparate destinate hemofilicilor cu anticorpi :
  - factor VIII porcin
  - factori activaţi ai complexului protrombinic.

Administrare

Tratamentul substitutiv se face pe cale generală şi cât mai precoce. Scopul este de a creşte factorul deficitar la o concentraţie de minimum 30%. În general, se consideră că manifestările hemoragice cu cât sunt mai grave, cu atât nivelul existent de FVIII este mai mic şi cu atât nivelul de atins este mai mare. Doza administrată depinde de greutatea bolnavului, concentraţia plasmatică a factorului, importanţa şi sediul hemoragiei, concentraţia preparatului utilizat. Administrarea se face în două prize zilnice pentru factorul VIII şi într-o singură priză pentru FIX. În principiu, administrarea unei unităţi de factor pe kilogram greutate corporală conduce la creşterea concentraţiei plasmatice a factorului respectiv cu 2%. Practic, doza de administrat se calculează după cum urmează :

Doza = (Concentraţie FVIII/IX teoretică - Concentraţie reală)/2 x Greutate pacient (Kg)

Dozele sunt de ***20-40 UI/kg/zi*** şi respectiv ***20-30 UI/kg/zi***. În funcţie de doză, greutatea pacientului şi concentraţia factorului din produsul utilizat, se poate calcula volumul de administrat.

În cazul utilizării plasmei proaspete, sunt necesari 10-20 ml/kg/zi în primele 2-4 zile sau, altfel spus, în funcţie de severitate, se vor administra 600-1.200 ml/zi. Se impune atenţie la încărcarea volumică.

Complicaţii

➢ infecţioase – hepatită virală B sau C, infecţie HIV (vezi capitolul Transfuziile)

➢ apariţia de anticorpi circulanţi – survine la 10-15% dintre pacienţii cu forme severe şi la 5% dintre pacienţii cu forme moderate. Imunizarea survine după administrarea de sânge sau derivaţi plasmatici. Anticorpii sunt de tip IgG4. În absenţa tratamentului substitutiv, anticorpii scad până la un nivel nedetectabil. În caz de reluare a tratamentului, survine o reacţie anamnestică cu creştera rapidă a anticorpilor din a 4-a zi. Titrul de anticorpi se exprimă în unităţi Bethesda (UB). O UB neutralizează 0,5 UI factor VIII sau IX.

Aspecte particulare

❖ *Tratamentul hemartozelor*

- antalgice (în funcţie de severitate), gheaţă local, puncţie articulară doar în formele voluminoase ;
- perfuzie cu factor în doze de 20-40 UI/kg x 2-3/zi x 5 zile apoi 20 UI/kg la 2-3 zile timp de o lună ;
- imobilizare în poziţie funcţională pentru maximum 4-5 zile apoi remobilizare ;
- se poate asocia corticoterapie în doze de 1-1,5 mg/kg/zi timp de 8 zile cu diminuare treptată şi întrerupere la câteva zile după reluarea activităţii.

❖ *Tratamentul sechelelor articulare*

- sinoviorteze – constau în distrugerea sinovialei prin injectare intra-articulară de osmiu sau izotopi. Sunt indicate în artropatiile cronice lichidiene şi hemartrozele recidivante;
- reeducare functional şi fizioterapie;
- chirurgie ortopedică : sinovectomie, artrodeze, osteotomii corectoare, proteze articulare.

❖ *Tratamentul hematoamelor*

- hematoame fără risc de extensie sau compresiune – administrarea a 20 UI/kg şi bandaj de menţinere ;
- hematoame cu risc vital – internare de urgenţă, administrarea de doze mari 40 UI/kg x 2-3/zi până la remiterea hematomului, intervenţie chirurgicală *in extremis* ;
- hematoame cu risc compresiv neuromuscular - se recomandă administrarea de 20 UI/kg x 2-3/zi timp de 3-5 zile, corticoterapie, imobilizare în atelă 3-5 zile.

❖ *Hemoragii intracraniene*

- Regulă absolută - orice hemofilic care a suferit un traumatism cranian şi acuză cefalee trebuie să primească tratament substitutiv.
- Pentru hemoragiile constituite – FVIII în doze de 40UI/kg x 2-3/zi până la rezolvarea episodului.

❖ *Alte tratamente*

▪ DDAVP (Minirin) - analog structural al lizin-vasopresinei ce provoacă o stimulare a celulelor endoteliale cu creşterea concentraţiei de factor Willebrand şi VIII:C. Preparatul este utilizat numai în cazul în care concentraţia de factor VIII este de minimum 10%. Este indicat în scop preventiv înaintea unor intervenţii puţin traumatice (extracţii dentare, intervenţii de mică chirurgie) : se prefuzează 0,4 g/kg o oră înainte. Se recomandă testarea prealabilă a eficacităţii preparatului la pacient, se verifică dacă administrarea sa determină creşterea VIII:C la minimum 40%;

▪ antialgice şi antiinflamatorii nesteroidiene (doar în fenomenele compresive) ;

▪ inhibitorii ale fibrinolizei (acid epsilon-amino-caproic, acid tranexamic) doar în hemoragii bucale, digestive ;

▪ vaccinare contra Hepatitei B.

❖ *Tratament preventiv*

▪ se interzic : injecţiile intramusculare, rasul cu lama, puncţiile, utilizarea de medicamente ce interferează cu hemostaza ;

▪ în caz de intervenţie stomatologică, în funcţie de importanţă, se va apela doar la tratament local cu gel de fibrină şi băi de gură cu inhibitori ai fibrinolizei până la administrare de DDAVP înainte sau factor VIII 20 UI/kg/zi timp de 3 zile;

▪ în investigaţii ca endoscopie, colonoscopie, fibroscopie, PBH : perfuzie de factor VIII 20 UI/kg x 2/zi x 2 zile ;

▪ în intervenţiile chirurgicale, se vor perfuza în continuu factor VIII pentru a obţine o concentraţie de 60%. Astfel, o perfuzie de 1-3 UI/kg/oră determină creşterea concentraţiei la 30-70%. Apoi se folosesc 30-40 UI/kg/zi până la cicatrizare şi dispariţia riscului hemoragic - aproximativ 10 zile în chirurgia generală şi 20 zile în cea ortopedică.

Supravegherea biologică a hemofilicilor

Tratamentul substitutiv cu produse sanguine la hemofilici antrenează un dublu risc : de contaminare virală şi de alloimunizare. Acest fapt impune la hemofilicii transfuzaţi o supraveghere la 6 luni interval care trebuie să cuprindă :

➢ bilanţ virologic care să vizeze VIH, virusul hepatitei C (presupunând ca a fost deja vaccinat anti A şi B) ;

➢ căutarea de allo-anticorpi trebuie realizată la minimum trei luni de la o perfuzie cu factor VIII. În cazul apariţiei de alloanticorpi, se pot utiliza ca produse substitutive :

▪ *factorul VIII uman,* rezervat, de obicei, pacienţilor cu răspuns moderat în anticorpi

▪ *factorul VIII porcin*, în general nu este neutralizat de anticorpii antifactor uman, dar poate induce apariţia de anticorpi cu specificitate proprie

▪ *fracţiuni coagulante activate* cum sunt factorul VII activat (Novoseven), Autoplex, FEIBA (*factor eight inhibitor bypassing activity*).

▪ *plasmafereze şi imunoadsorbţie pe proteina A* (extract din stafilococ) cu îndepărtarea antioagulantului.

La descoperirea fiecărui caz, se impune o anchetă familială pentru depistarea tuturor cazurilor şi femeilor purtătoare ale anomaliei genetice în vederea sfatului genetic şi diagnosticului antenatal în caz de sarcină dorită.

Pentru depistare, se utilizează tehnici de biologie moleculară.

Diagnosticul prenatal se realizează în centrele specializate. El cuprinde mai multe etape :

▪ studiul genetic familial înainte de sarcină

▪ determinarea sexului fetal pe celule recoltate prin amniocenteză în a 17-a săptămână de sarcină

▪ în caz de sex masculin al fătului şi anchetă familială pozitivă, se va doza factorul VIII în sângele fetal.

HEMOFILIA B

Este o boală ereditară cu transmitere recesivă, gonosomală, caracterizată în plan fiziopatologic prin deficitul cantitativ sau calitativ al factorului IX. Reprezintă 15-20% din hemofilii. Incidenţa sa este de 1 la 30.000 naşteri de sex masculin.

Factorul IX este sintetizat de ficat sub formă de preprofactor, suferind un proces de maturare intracelulară, şi face parte din grupul factorilor dependenţi de vitamina K.

Factorul IX este activat de factorul XIa în prezenţa calciului sau de factorul VIIa complexat de factorul tisular. După activare, proteolizează X în Xa în prezenţa VIII:C, ionilor de calciu şi fosfolipidelor. Activarea factorului IX constă în proteoliza a două legături aminoacide, cu eliberarea unui peptid şi modificarea conformaţiei în una bicatenară.

Gena codantă este localizată pe braţul lung al cromozomului X.

Hemofilia B prezintă mai multe forme :

❖ deficitul cantitativ, care este cel mai frecvent (70%), este caracterizat prin scăderea similară a activităţii şi antigenului (IX:C şi IX:Ag) ;

❖ hemofilia B Leyden este un caz particular de deficit cantitativ sever instalat înainte de 15 ani şi care recuperează treptat şi parţial (până la 60%) după pubertate ;

❖ deficitul calitativ caracterizat printr-un deficit superior al IX:C faţă de IX:Ag, datorită unor mutaţii punctuale ale unor aminoacizi cu afectarea activităţii coagulante.

Transmiterea bolii şi manifestările clinice sunt identice cu cele din hemofilia A.

Dignosticul biologic utilizează aceleaşi teste ca şi pentru hemofilia A, dar cu specificitate pentru factorul IX. Se pot utiliza şi tehnici de biologie moleculară pentru diagnosticul purtătoarelor, cât şi diagnosticul prenatal.

În funcţie de deficitul în factor IX, sunt descrise trei forme : uşoară, medie, severă.

Tratament

Ca şi pentru hemofilia A, tratamentul este de substituţie, utilizând concentrate de factor IX. Scopul principal este de a obţine un nivel circulant hemostatic pentru IX utilizând doza eficace cea mai scăzută de concentrat de factor IX.

Principiile de tratament sunt similare, ca şi concentraţiile plasmatice de atins, ritmul de administrare, durata. Acestea sunt în funcţie de severitatea hemoragiei şi localizarea ei.

Câteva particularităţi :

- Timpul de înjumătăţire a IX:C este mai mare decât al VIII:C, de 18-30 ore, astfel produsul poate fi administrat în două prize cotidiene şi nu trei, în caz de hemoragii mai importante. După o doză iniţială, de încărcare, la fiecare 12-24 ore se administrează jumătate din această doză pentru a menţine nivelul plasmatic atins iniţial.
- Calculul dozelor se face ca şi pentru produsele de factor VIII, ştiind că administrarea a 1 UI/kg creşte concentraţia plasmatică cu 1%.

Dozele administrate şi durata de administrare depind de forma bolii şi severitatea accidentului hemoragic :

- *Hemoragii uşoare* (hemartroze, hematoame superficiale, hematoame musculare superficiale) – nivelul plasmatic ţintă este de 20-30%. Administrarea a 3-4 doze la 12 ore interval poate fi suficientă.
- *Hemoragii moderate* (hemoragii mucoase exteriorizate, hematoame cu tendinţă la extensie) – nivelul de atins pentru factorul IX este de 40-50%. Se administrează doze la 12 ore interval, câteva zile, până la oprirea hemoragiei şi începerea procesului de rezoluţie. Se pot asocia agenţi antifibrinolitici (AEAC, acid tranexamic).
- *Hemoragii severe* (SNC, cu risc compresiv/vital) – nivelul urmărit depăşeşte 50%, ajungând la 100%, dozele administrându-se minimum 7-10 zile, până la stabilizare.

Produsele utilizate sunt : plasma proaspătă sau congelată, concentratele de complex protrombinic (Proconvertina/Protrombina/factorul antihemofilic B/factorul Stuart - PPBS), concentratele de factor IX cu înaltă puritate. Deşi apariţia de anticorpi anti-IX este mai rară faţă de anti-VIII (2,5-16% din cei cu formă severă), când aceştia apar, se pot utiliza concentrate de fracţiuni coagulante activate (Autoplex, FEIBA – conţin cantităţi variabile de factori II, VII, IX, X şi factori activaţi VIIa Novoseven, IXa, Xa) sau factor VII activat (Novoseven).

Complicaţiile care pot surveni la pacienţii trataţi cu PPBS sunt : infecţiile virale, tromboembolism şi sdr de coagulare intravasculară. Ultimele două complicaţii par a fi specifice tratamentului cu PPBS, încât se recomandă atenţie la dozele utilizate, iar la cei care au nevoie de creştere importantă a concentraţiei de factor IX sau un tratament prelungit, se recomandă utilizarea de concentrate de factor IX.

URGENȚE HEMATOLOGICE

DEFINIŢIE

Hemopatiile şi tratamentul acestora expun pacienţii la diferite tipuri de complicaţii care pot pune în joc prognosticul lor vital. Unele dintre aceste complicaţii reprezintă adevărate urgenţe, deoarece pot evolua nefavorabil în interval de câteva ore. Din această categorie fac parte sindromul de liză tumorală şi cel de coagulare intravasculară diseminată. Aceste două urgenţe trebuie recunoscute cât mai rapid, deoarece aplicarea unui tratament adaptat permite limitarea riscurilor de morbiditate sau mortalitate la aceşti pacienţi. Alte complicaţii pot surveni la pacienţii aflaţi în aplazie. Diagnosticul lor etiologic este uneori complex şi adesea plurifactorial.

SINDROMUL DE LIZĂ TUMORALĂ (SLT)

DEFINIŢIE, GENERALITĂŢI

Sindromul de liză tumorală (SLT) reprezintă consecinţa distrugerii masive a celulelor tumorale, conducând la eliberarea în circulaţie a compuşilor intracelulari. Riscul major este reprezentat de apariţia insuficienţei renale acute, fie prin precipitarea cristalelor fosfocalcice, fie prin nefropatia uratică. Manifestările biologice sunt legate de:

- eliberarea componentelor intracelulare (hiperfosfatemie, hiperpotasemie, hiperuricemie)
- precipitarea cristalelor de acid uric sau fosfo-calcici (hipocalcemie, insuficienţa renală)
- disfuncţia mitocondrială (acidoza metabolică).

În afară de consecinţele renale, aceste manifestări biologice pot fi la originea unor consecinţe cardiovasculare sau neurologice (tulburări de ritm, convulsii...).

Sindromul de liză survine cel mai adesea după iniţierea chimioterapiei, dar poate fi şi spontan în aproape o treime din cazuri. Factorii de risc obişnuiţi sunt reprezentaţi de tumorile cu ritm de creştere rapid (leucemiile acute, limfoamele agresive...), masa tumorală mare sau o insuficienţă renală pre-existentă care limitează clearance-ul spontan al metaboliţilor eliberaţi în circulaţie.

Sindromul de liză tumorală poate reprezenta o complicaţie letală a terapiei anticanceroase şi apare atunci când un număr mare de celule tumorale sunt distruse rapid eliberând ionii intracelulari şi diferiţi produşi metabolici conducând la hiperuricemie, hiperpotasemie, hiperfosfatemie şi hipocalcemie cu insuficienţă renală acută.

Principiile de management ale SLT sunt :

(1) identificarea pacienţilor cu risc înalt şi iniţierea profilaxiei

(2) recunoaşterea precoce a complicaţiilor metabolice şi renale cu iniţierea promptă a terapiei suportive, inclusiv hemodializa.

FIZIOPATOLOGIE

Sindromul de liză tumorală reprezintă consecinţa distrugerii masive a celulelor tumorale, conducând la eliberarea în circulaţie a compuşilor intracelulari. Astfel, sunt eliberaţi fosfaţii şi

acizii nucleici, potasiul şi calciul. Sinteza purinică *de novo* conduce la transformarea bazelor purinice în acid uric reprezentând principalul mecanism al hiperuricemiei. În sfârşit, disfuncţia mitocondrială şi insuficienţa renală acută pot antrena o acidoză satelită sindromului de liză tumorală.

Insuficienţa renală poate surveni datorită precipitării cristalelor fosfo-calcice sau de acid uric. Calciul eliberat din celulele tumorale se va lega de fosfaţi, conducând la formarea de cristale fosfo-calcice cu antrenarea unei hipocalcemii paradoxale. Această precipitare este favorizată de un mediu alcalin. Pe de altă parte, hiperuricemia poate antrena o precipitare sistemică sau renală, acidul uric fiind puţin hidrosolubil. Insuficienţa renală reprezintă o placă turnantă a sindromului de liză, limitând eliminarea compuşilor metabolici eliberaţi cu agravarea tulburărilor metabolice.

Trei manifestări clinice apar de obicei în cursul sindromului de liză:

⇨ ***insuficienţa renală***;

⇨ ***anomaliile cardiovasculare*** ➔ *hiperpotasemia* poate determina modificări electrocardiografice şi aritmii cardiace cu risc vital, inclusiv asistolie. *Hiperpotasemia* severă poate antrena anomalii electrocardiografice precum unde T înalte, aplatizarea undelor P, alungirea intervalului PR, lărgirea complexelor QRS, unde S profunde. *Hipocalcemia* poate determina alungirea intervalului QT predispunând la aritmii ventriculare.

⇨ ***anomalii neurologice***, în special de tip convulsiv, legate de hipocalcemie. Aceste manifestări sunt rare la adulţi, survenind mai ales la copii.

FACTORI FAVORIZANŢI

Patru factori principali sunt asociaţi cu riscul crescut de liză tumorală :

❖ ***Tipul de boală neoplazică*** (timpul de dublare celulară rapid) ➔ tumorile cu timp de dublare scurt (hemopatiile de înaltă malignitate) au un risc crescut de sindrom de liză. Din acest punct de vedere, neoplaziile se împart în :

- o tumori cu risc înalt de liză (leucemiile acute mieloblastice sau limfoblastice, forme hipercelulare şi limfomul Burkitt/limfomul limfoblastic)
- o tumori cu risc intermediar (limfoamele difuze cu celulă mare B, leucemia limfatică cronică, leucemia granulocitară cronică, tumorile solide cu timp de dublare rapid – cancerul bronhopulmonar cu celule mici, tumorile germinale)
- o tumori cu risc scăzut de liză.

❖ ***Masa tumorală*** ➔ riscul este mai mare în cazul tumorilor voluminoase. Masa tumorală poate fi apreciată prin numărul de blaşti circulanţi, masa tumorală clinică sau radiologică, nivelul LDH.

❖ ***Chimioterapie*** (mai ales cele dependente de ciclu precum antraciclinele) ➔ majoritatea cazurilor de liză tumorala survin ca răspuns la iniţierea chimioterapiei (distrugerea celulelor tumorale sub acţiunea chimioterapiei), cu atât mai mult cu cât tumora este mai chimiosensibila si cu cât drogurile utilizate sunt cu acţiune dependentă de ciclul celular

(antracicline, metotrexat, etopozid...). Aproape o treime din cazuri survin înainte de iniţerea chimioterapiei (spontane).

❖ ***Teren*** ➔ funcţia renală este esenţială în menţinerea homeostaziei. Ea permite eliminarea metaboliţilor eliberaţi din celulele tumorale. O insuficienţă renală preexistentă antrenează o scădere a clearance-ului şi antrenează o creştere a riscului de sindrom de liză.

DIAGNOSTIC

In ciuda faptului că este acceptat de mult faptul că sindromul de liză tumorală antrenează mai multe complicaţii metabolice relativ tipice, doar recent s-a stabilit o definiţie standardizată. Definiţia cea mai utilizată este cea Cairo-Bishop care face o distincţie între SLT « de laborator » sau biologic, moderat (SLTL), şi SLT « clinic », grav (SLTC).

⇨ ***SLT de Laborator*** este confirmat dacă în intervalul de timp cu 3 zile înainte şi până la 7 zile de la debutul chimioterapiei cel puţin doi din cei patru parametri de laborator definiţi în tabelul de mai jos depăşesc limitele fixate sau cresc/scad cu peste 25% din valoarea lor iniţială.

⇨ ***SLT Clinic*** este un SLTL la care se adaugă unul sau mai multe din simptomele următoare: insuficienţă renală (creatinina >1,5 x limita superioară), aritmii, moarte subită sau crize epileptice. SLTC este împărţit în 5 stadii de gravitate în funcţie de manifestările clinice.

Tabel **47**

Parametrii de laborator	Pragul	Variaţii în raport cu nivelul iniţial
Acid uric	≥476 µmol/l	Creştere cu >25%
Potasiu	≥6,0 mmol/l	Creştere cu >25%
Fosfaţi	≥ 2,1 mmol/l copii ≥ 1,45 mmol/l adulţi	Creştere cu >25%
Calciu	≤1,75 mmol/l	Scădere cu <25%

Insuficienţa renală acută este cvasi-constantă în caz de SLT. Tulburările de ritm sunt consecinţa unei hiperpotasemii sau a unei hiperfosfatemii. Convulsiile se datorează hipocalcemiei, dar sunt rare la copii şi excepţionale la adult.

MANIFESTĂRI

În sindromul de liză tumorală pot apărea o multitudine de manifestări clinice înainte de iniţierea chimioterapiei şi, mai ales, în primele 72 ore. Anamneza trebuie să urmărească următoarele informaţii:

- momentul apariţiei simptomelor legate de neoplazie
- prezenţa durerilor abdominale şi a distensiei
- prezenţa simptomelor urinare precum disuria, oliguria, durerile în flanc şi hematuria
- apariţia simptomelor de hipocalcemie precum anorexie, vărsături, crampe, convulsii, spasme, alterare a stării de conştienţă şi tetanie

- apariţia simptomelor hiperpotasemiei precum slăbiciune musculară şi paralizii

Alte simptome legate de SLT includ:

- letargie
- edeme
- încărcare lichidiană
- decompensare cardiacă
- aritmii cardiace
- sincopă
- deces

EXAMEN CLINIC

Simptomele reflectă severitatea anomaliilor metabolice subjacente. Hiperpotasemia poate antrena parestezii, oboseală musculară şi aritmii cardiace fatale.

Hipocalcemia severă poate conduce la următoarele simptome:

- parestezii şi tetanie cu semne Chvostek şi Trousseau prezente
- anxietate
- spasme carpiene şi pedale
- bronhospasm
- convulsii
- stop cardiac

Depunerea de fosfat de calciu în diferite ţesuturi poate fi responsabilă de:

- prurit
- modificări gangrenoase ale pielii
- irită
- artrită

Uremia poate determina următoarele simptome:

- fatigabilitate
- oboseală
- stare de rău
- greaţă
- vărsături
- anorexie
- gust metalic
- sughiţ
- iritabilitate neuromusculară
- dificultate de concentrare
- prurit
- picioare neliniştite
- echimoze

Pe măsură ce uremia progresează, parestezia devine mai intensă şi apar semne de pericardită, precum şi semne de toxicitate din partea drogurilor administrate cu eliminare renală. Apar semne de încărcare volumică precum dispnee, raluri pulmonare. Edeme şi hipertensiune.

Hiperuricemia poate antrena letargie, greaţă, vărsături. Creşterea rapidă a acidului uric poate duce la artralgii şi colică nefretică.

MANAGEMENT

Managementul optimal al sindromului de liză tumorală trebuie să vizeze păstrarea unei funcţii renale normale. Trebuie să includă prevenirea aritmiilor şi iritabilitatea neuromusculară.

1. Prevenirea afectării renale

Toţi pacienţii cu risc de a dezvolta sindromul de liză tumorală trebuie să primească ***hidratare iv*** pentru a ameliora rapid perfuzia renală şi filtrarea glomerulară şi pentru a minimaliza acidoza (care scade pH-ul urinar şi promovează precipitarea cristalelor de acid uric) şi oliguria (ca semn general). Acest obiectiv este realizat, în general, prin hiperhidratare intravenoasă (2.500 – 3.000 ml/m^2 suprafaţa corporală, zilnic, la pacienţii cu riscul cel mai mare). Hidratarea este metoda preferată pentru a creşte eliminările urinare, dar diureticele pot fi uneori necesare. Mai mult, la pacienţii la care eliminările urinare rămân scăzute după obţinerea unui status optim de hidratare se recomandă utilizarea unui diuretic de ansă (ex. furosemid) pentru a stimula diureza cu o valoare ţintă a eliminărilor de cel puţin 2 ml/kg/oră.

Reducerea nivelului de acid uric prin utilizarea de allopurinol şi mai ales de rasburicază poate menţine sau chiar ameliora funcţia renală cu reducerea nivelului seric de fosfor. Deşi allopurinolul previne formarea de acid uric, acidul uric existent tot trebuie excretat. Nivelul de acid uric poate necesita cel puţin două zile pentru a scădea, interval ce permite apariţia nefropatiei uratice. Mai mult, în ciuda terapiei cu allopurinol, xantina se poate acumula ducând la nefropatie xantinică. Deoarece nivelul seric de xantină nu este determinat de rutină, efectul său în apariţia afectării renale acute rămâne nesigur. Prin prevenirea acumulării de xantină şi prin metabolizarea directă a acidului uric, rasburicaza este mai eficace decât allopurinolul în terapia lizei tumorale.

Alcalinizarea urinară creşte solubilitatea acidului uric, dar scade solubilitatea fosfatului de calciu. Deoarece este mult mai dificil de a corecta hiperfosfatemia decât hiperuricemia, alcalinizarea urinară trebuie evitată la pacienţii cu liză tumorală atunci când este disponibilă rasburicaza. Nu este clară importanţa rolului alcalinizării urinare în prevenirea afectării renale acute. Dacă alcalinizarea este utilizată, trebuie întreruptă când apare hiperfosfatemia. Pacienţii cu deficit de glocoză-6-dehidrogenază trebuie să evite rasburicaza, datorită peroxidului de hidrogen, un produs de metabolizare a acidului uric care poate cauza methemoglobinemia şi, în cazuri severe, hemoliza. Rasburicaza este recomandată ca terapie de primă linie la pacienţii cu risc înalt de SLT. Pacienţii cu risc scăzut pot fi trataţi cu hidratare iv cu sau fără allopurinol.

2. Prevenirea aritmiilor cardiace şi iritabilităţii neuromusculare

• ***Hiperpotasemia*** rămâne componenta cea mai periculoasă a SLT deoarece poate antrena deces prin aritmii cardiace. Pacienţii trebuie să reducă aportul alimentar de potasiu şi fosfor pe perioada cu risc de liză. Se impune măsurarea frecventă a nivelului potasiului la fiecare 4-6 ore şi administrarea orală de răşini schimbătoare de ioni la pacienţii cu liză tumorală şi afectare renală. Dializa şi hemofiltrarea elimină efectiv potasiul. Soluţiile glucozate tamponate cu insulină sau beta-agoniştii pot fi utilizaţi ca măsuri de temporizare, iar calciul gluconic poate fi administrat pentru a reduce riscul de aritmii cardiace în aşteptarea dializei.

• ***Hipocalcemia*** poate conduce la aritmii cu risc letal şi iritabilitate neuromusculară; controlul nivelul fosforului seric poate preveni hipocalcemia. Hipocalcemia simptomatică trebuie tratată cu calciu la dozele cele mai scăzute necesare pentru a îndepărta simptomele deoarece administrarea excesivă de calciu poate creşte formarea fosfatului de calciu şi rata sa de cristalizare. Hipocalcemia neînsoţită de semne sau simptome nu necesită tratament.

3. Managementul afectării renale severe acute

În ciuda terapiei optimale, alterarea renală acută poate surveni la unii pacienţi impunând terapie suportivă specifică. Deşi indicaţiile de instituire a dializei la pacienţii cu liză tumorală sunt aceleaşi ca pentru toţi pacienţii cu insuficienţă renală, totuşi nivelele de la care se iniţiază sunt mai scăzute datorită potenţialului de eliberare mai rapidă a potasiului şi de acumulare la aceşti pacenţi cu oligurie. La aceşti pacienţi, hipercalcemia simptomatică indusă de hiperfosfatemie poate impune dializa.

4. Monitorizarea

Eliminările urinare reprezintă parametrul principal în monitorizarea pacienţilor cu risc de SLT, cât şi la cei la care liza tumorală este în curs. La pacienţii cu risc crescut, echilibrul hidro-electrolitic trebuie evaluat frecvent. Astfel, la pacienţii cu risc crescut, intrările şi ieşirile lichidiene, alături de determinarea acidului uric, creatinina şi electroliţii se vor evalua la fiecare 4-6 ore după iniţierea terapiei, în acelaşi timp monitorizarea cardiacă continuă. La pacienţii cu risc intermediar, evaluarea se face la fiecare 8-12 ore, iar la cei cu risc scăzut - zilnic. Monitorizarea trebuie menţinută pe toată perioada de risc, depinzând de regimul terapeutic.

5. Scăderea riscului de SLT prin utilizarea unei prefaze terapeutice

Pacienţii cu risc crescut de dezvoltare a unui SLT ar putea primi iniţial o chimioterapie cu intensitate redusă. O distrugere mai lentă a celulelor tumorale ar permite mecanismelor renale să asigure o eliminare mai bună a metaboliţilor înainte de a se acumula la un nivel ce ar antrena alterări organice. O astfel de strategie a fost aplicată în cazul limfoamelor non-Hodgkin agresive sau leucemia Burkitt, la care s-au administrat asocieri de ciclofosfamidă în doze scăzute, vincristină şi prednison cu o săptămână înainte de a iniţia cura în doze intensive. La fel, în cazul pacienţilor pediatrici cu leucemie acută limfoblastică, se recomandă prednison timp de o săptămână înainte de a iniţia cura de inducţie.

HIPERCALCEMIE

GENERALITĂŢI

• Hipercalcemia este o urgenţă medicală care pune în joc prognosticul vital în câteva ore sau chiar minute, ţinând cont de posibilitatea stopului cardiac ce poate surveni în acest context.

• Diagnosticul de hipercalcemie este un diagnostic biologic care se bazează pe dozarea calcemiei totale, a cărei valoare medie în populaţie este de 2,38 mmol/L +/- 0,08 (95,5 mg/L +/- 3,5), indiferent de modalitatea de dozare.

• Confirmarea diagnosticului este simplă, prin refacerea dozajului.

• Orientarea diagnosticului etiologic se bazează în primul rând pe dozarea parathormonului (PTH).

BIOLOGIE

Calcemia măsurată reprezintă suma dintre :

⇨ ***calciul ionic*** (47%) – intervine în excitabilitatea neuro-musculară şi în coagulare

⇨ ***calciul legat*** (53%) – cuprinde calciul legat la proteine (40% din calciul total), în special de albumină, şi calciul complexat de anioni (13%) sub formă de bicarbonat, fosfat, sulfat, citrat. Calciul neionizat reprezintă forma lipsită de activitate biologică.

FIZIOPATOLOGIE

Nivelul calcemiei este strict controlat de PTH şi vitamina D. Hipercalcemia este rezultatul unui dezechilibru între fluxul de intrare şi cel de ieşire din compartimentul sanguin, dezechilibru produs de:

❖ ***creşterea absorbţiei digestive de calciu*** sub influenţa vitaminei D produse în exces (ganulomatoze) sau supradozaj terapeutic, exces major de aport calcic de origine alimentară (sindromul băutorilor de lapte) sau mai adesea iatrogen.

❖ ***rezorbţia osoasă crescută***, prin exces de PTH (hiperparatiroidie primară), de PTH *related peptide* (PTHrp) (aceeaşi acţiune ca PTH, dar de origine neoplazică), alţi hormoni (tiroxină, corticoizi), citokine cu efect litic osos de origine neoplazică (mielomul multiplu, alte limfoproliferări, metastaze osoase, hipercalcemii de imobilizare). Aceste două mecanisme sunt adesea asociate.

❖ ***diminuarea excreţiei renale*** de calciu, agravarea unei hipercalcemii prin dezhidratare, ea însăşi indusă de o hipercalciurie cronică, efect hipercalcemiant al tiazidicelor.

Putem clasifica hipercalcemia în funcţie de nivelul seric şi de semnele clinice de însoţire :

- ***hipercalcemie uşoară*** : < 3 mmol/l, sau < 120 mg/l
- ***hipercalcemie moderată*** : 3 – 3,5 mmol/l, între 120 şi 140 mg/l
- ***hipercalcemie severă*** : > 3,5 mmol/l, sau>140mg/l

ETIOLOGIE – HIPERCALCEMIA DIN AFECŢIUNILE MALIGNE

⇨ ***Mielomul multiplu*** este responsabil de 10% din hipercalcemiile maligne.

⇨ Toate formele de ***limfom*** sau de leucemie pot induce o hipercalcemie, în special limfomul/leucemia cu celule T ale adultului (ATLL), datorat unui retrovirus (HTLV1). Hipercalcemia este semnalată în aproape 5% din cancere. Ea se diferenţiază uşor de hipercalcemia prin hiperparatiroidism prin valori normale ale PTH plasmatic.

⇨ Printre ***tumorile solide*** se remarcă cancerele de plămân, sân, rinichi, tract digestiv. În majoritatea cazurilor, hipercalcemia se datorează unei hiperproducţii (non exclusive) de către celulele tumorale a unui peptid mimând efectele biologice ale PTH ➔ PTHrp.

DIAGNOSTIC

Circumstanţe diagnostice

- Fortuit, cel mai adesea, 80% dintre hipercalcemii sunt asimptomatice.
- În contextul unor fracturi pe os patologic sau în contextul instalării unei hipercalcemii acute.

Tablou clinic

- ***Semne generale*** :
  - astenie generală şi musculară
- ***Semne renale*** :
  - poliuro-polidipsie
  - litiaze renale (recidivante, bilaterale)
- ***Semne digestive*** :
  - anorexie
  - constipaţie
  - greaţă, vărsături
- ***Semne neuro-psihice*** :
  - apatie
  - somnolenţă
  - alterare a stării de conştienţă (confuzie, psihoză, comă)
- ***Semne cardio-vasculare*** :
  - hipertensiune
  - scurtare QT pe 'ECG

Tablou biologic

- Calciu> 105 mg / l (2,63 mmol/l)
- Calciu ionic > 52,8 mg/l (1,32 mmol/l)
- Dozare PTH
- Calciurie în 24 h
- Dozare calcitriol
- Bilanţ renal
- Electroforeză a proteinelor serice

- Markeri de formare osoasă / fosfatază alcalină, fosfatază alcalină osoasă
- Markeri de resorbţie osoasă / hidroxiprolină, fosfatază tartrat rezistentă (PATR)+/- .

Electrocardiogramă

Având în vedere gravitatea hipercalcemiei şi complicaţiile mai ales cardiace, după confirmarea hipercalcemiei, ECG rămâne examenul de realizat în urgenţă pentru a căuta semnele următoare :

- scurtarea segmentului ST
- extrasistolele ventriculare
- blocul atrio-ventricular, fibrilaţia ventriculară

TRATAMENT

Scop

Scopul tratamentului constă în diminuarea absorbţiei intestinale, creşterea extracţiei urinare şi inhibarea rezorbţiei osoase. Pentru aceasta, dispunem de următoarele modalităţi:

- modalităţi medicale :
  - rehidratarea : ser fiziologic
  - antagoniştii de vitamina D /prednison
  - diureticele de ansă / furosemid
  - calcitonina
  - bisfosfonatele :
    - Zoledronat = Zometa
    - Pamidronat = Aredia
    - Etidronat = Didronel
  - Chimioterapia
- modalităţi substitutive:
  - dializa în insuficienţa renală acută
- mijloace chiurgicale :
  - paratiroidectomie

Indicaţii

Indicaţiile terapeutice depind de nivelul calcemiei şi de gravitatea semnelor clincice :

➔ ***Hipercalcemie > 3,5mmol/l (140mg/l),*** se utilizează schema:

- ser fiziologic : 1.000 – 2.000 ml timp de o oră
- furosemid 20-80 mg la fiecare 2 h în IV
- aceasta permite :
  - scăderea calcemiei în 2-3h
  - o normalizare a calcemiei în 12 - 24h
- calcitonină :
  - 5-10 UI/kg/zi în perfuzie cu ser fiziologic
  - eficace în 2-3 h

- Bifosfonatele reprezintă un grup de medicamente care inhibă activitatea osteoclastică (şi, în consecinţă, resorbţia osoasă), însă nu şi resorbţia de calciu la nivelul tubilor renali, mediată prin intermediul proteinelor de tip PTH-*like*. Datorită unei absorbţii intestinale slabe, bifosfonaţii se administrează iniţial pe cale I.V.:
    - Pamidronat (Aredia®): 90mg (6 f)/1.000 ml sef fiziologic 24h
    - Acid Zoledronic: Zometa® diluat în 100 ml de ser fiziologic sau ser glucozat 5% şi administrat în perfuzie intravenoasă unică de cel puţin 15 minute. Pacienţii trebuie corect hidrataţi înainte şi după administrarea Zometa®.
    - Clodronat (Clastoban®) : 4-6 mg/kg în ser fiziologic timp de 3-6 h

➔ ***Hypercalcemie < 3,5 mmol/l (<140 mg/l)***, se utilizează schema:

- Prednison: 10-30 mg/zi, eficace în câteva zile
- Fosfaţi în PO
- rehidratare

COAGULARE INTRAVASCULARĂ DISEMINATĂ

INTRODUCERE - DEFINIŢIE

- O activare a coagulării este adesea întâlnită la pacienţii din reanimare. Extensia acestei activări merge de la o activare locală şi adaptată la situs-ul unei leziuni vasculare în măsură de a asigura hemostaza locală, până la o coagulare sistemică, creând tabloul unei coagulări instravasculare diseminate (CIVD).
- Activarea intravasculară diseminată a coagulării are consecinţe multiple precum :
    - formarea intravasculară de depozite de fibrină responsabile de manifestări trombotice
    - consumul de factori ai hemostazei ducând la un status hipocoagulant cu apariţia sau agravarea manifestărilor hemoragice
    - activarea în paralel a fibrinolizei → rezultă produşi de degradare ai fibrinei (PDF, D-Dimeri), complexe solublile ce potenţează status-ul hipocoagulant
- Activarea coagulării va inter-reacţiona cu căile inflamatorii şi astfel va contribui la fiziopatologia insuficienţei diferitelor organe.

ETIOLOGII

Cauzele ce pot conduce la CIVD pot fi multiple :

- **leziuni tisulare multiple**
    - politraumatisme
    - arsuri
    - rabdomioliză
    - pancreatită acută
    - insuficienţă hepatică acută
- **liză celulară masivă**

    - accident transfuzional prin incompatibilitate ABO
    - drepanocitoză
    - circulaţie extra-corporeală
    - cancere metastatice
    - leucemie acută mieloblastică formă promielocitară
- **eliberare de endotoxine bacteriene**
    - sepsis sever / şoc septic
    - *purpura fulminans*
    - acces palustru
- **patologii obstetricale**
    - moarte fetală *in utero*
    - hematom retro-placentar
    - embolie amniotică
    - pre-eclampsie
- **intervenţii chirurgicale grele**
    - pelvine
    - pancreatice
    - toracice
- **toxice**
    - venin de şarpe

In hematologie, CIVD survine, mai ales, în cursul leucemiilor acute, prin eliberarea de factori procoagulanţi din celulele blastice (mai ales promielocite, monoblaşti), dar şi în cursul unor septicemii (complicaţii infecţioase în hemopatii) sau în cursul unor hemolize masive din incompatibilităţi trasfuzionale sau anemii hemolitice autoimune.

DIAGNOSTIC

Examen clinic

⇨ ***Sindroame hemoragice difuze*** :

- purpură peteşială cutaneo-mucoasă difuză prin trombocitopenie
- echimoze extinse în hartă geografică
- hemoragii exteriorizate : sângerari la nivelul mucoaselor difuze / epistaxis / hematurie / hemoragii digestive
- sângerări la locurile de puncţie venoasă

⇨ ***Sindrom trombotic difuz*** :

- *Semne dermatologice* : purpură necrotică / gangrenă a extremităţilor
- *Semne neurologice* : convulsii / tulburări ale stării de conştienţă / comă
- *Semne pneumologice* : detresă respiratorie (embolii pulmonare)
- *Semne nefrologice* : IRA oligo-anurică / hematurie

⇨ Orientare etiologică : căutare de factori favorizanţi

Examene paraclinice

Coexistă trei grupe de manifestări :

- Semne de consum ale factorilor coagulării :
  - timpul Quick (timp de protrombină) alungit prin deficit factor V şi II
  - TCA (aPTT) alungit prin diminuare factor VIII
  - trombocitopenie profundă
  - fibrinopenie care, atunci când scade sub 0.8 g/l, participă la alungirea TQ şi aPTT
  - factorii VII şi X sunt normali sau diminuaţi
- Semne de activare sistem fibrinolitic :
  - creştere a produşilor de degradare a fibrinogenului şi a fibrinei (PDF)
  - scurtarea (moderată) a timpului de liză a euglobulinelor
- Martori ai prezenţei de monomeri de fibrină şi produşi de degradare – prezenţa de complexe solubile în sânge – D-dimeri.

Alte rezultate :

- Hemostaza primară : TS ↑ şi trombocite = ↓↓ (trombopenie de consum)

Diagnostic diferenţial

- Insuficienţă hepatocelulară – deficit de sinteză a factorilor de coagulare. Scăderea factorului V apare prima.
- Fibrinoliză primară acută – absenţa D-Dimerilor şi trombopeniei.

TRATAMENT

Management

- urgenţă vitală
- transfer în reanimare

Condiţionare

- monitorizare cardio-tensională şi saturaţie arterială în oxigen
- oxigenoterapie pentru ca SaO2 > 94%
- cale venoasă centrală de calibru necesar

TTT etiologic

➔ element esenţal – terapia patologiei subjacente

TTT simptomatic antihemoragic – tratament de substituţie

- Transfuzuia de concentrate trombocitare unitare (prin afereză) dacă
  - trombocite < 50.000/mm^3

  - hemoragie activă
  - se practică un act invaziv
- Transfuzia de plasmă proaspătă congelată dacă :
  - TP < 40%
  - se practică un act invaziv
- Transfuzia de concentrat eritrocitar în funcţie de nivelul de anemie şi toleranţa acesteia de către pacient
- Transfuzia de factori ai coagulării :
  - Dacă transfuzia de plasmă proaspătă congelată este imposibilă la pacienţii cu sângerare (datorită riscului de încărcare volumică) → concentrate de factori ex: complexul protrombinic concentrat (CPC).
  - În caz de hipofibrinogenemie severă (<1 g/l) persistentă, în ciuda PPC → fibrinogen liofilizat sau crioprecipitat

TTT simptomatic trombotic

Nici un tratament nu şi-a demonstrat eficacitatea în CIVD în acest sens.

- ***Heparina*** :
  - dacă CIVD cu predominanţa trombozei → heparină în doză terapeutică
  - dacă la aceşti pacienţi coexistă un risc hemoragic → heparină nefracţionată în continuu
  - utilizarea de doze ajustate la greutate (10 µg/kg/h)
  - dacă CIVD este fără sângerări: se recomandă profilaxie anti-trombotică prin doze profilactice de heparină integrală sau fracţionată.
- ***Antitrombina*** nu este indicată
- ***Antifibrinolitice***:
  - În general nu sunt recomandate pentru că blochează fibrinoliza locală şi împiedică repermeabilizarea microcirculaţiei

Supraveghere clinică şi paraclinică a eficacităţii şi toleranţei terapiilor.

Nu se vor face

- **puncţie lombară**
- **punerea unui cateter central**

NEUTROPENIE FEBRILĂ

DEFINIŢII

Febra — Febra la pacienţii neutropenici este definită ca o singură determinare orală de >38.3°C sau o temperatură de > 38.0°C menţinută un interval de >1 oră.

Neutropenia — Definiţia neutropeniei variază de la o instituţie la alta, dar, de obicei, este definită ca o cifră absolută de < 1.500 neutrofile/mmc, în timp ce neutropenia severă este definită de o cifră de neutrofile < 500/mmc sau o cifră care va scădea sub 500/mmc în următoarele 48 ore. Riscul infecţiilor majore creşte odată cu scăderea neutrofilelor sub 500/mmc mai ales când durata se prelungeşte peste 7 zile.

RISC DE COMPLICAŢII SEVERE

Evaluarea clinică iniţială se concentrează asupra riscului de complicaţii severe. Evaluarea riscului va dicta abordul terapeutic relativ la necesitatea spitalizării, antibioterapia IV, prelungirea spitalizării.

• **Pacienţii cu risc scăzut** sunt aceia care vor avea o neutropenie sub 500/mmc pe o durată mai mică de 7 zile şi care nu asociază comorbidităţi active sau nu prezintă disfuncţii renală sau hepatică. Majoritatea pacienţilor care primesc chimioterapie pentru tumori solide sunt consideraţi a avea un risc scăzut pentru complicaţii necesitând spitalizare sau prelungirea spitalizării.

Pacienţii cu risc scăzut sunt pacienţii cu cancer şi:

- tumori solide (neoplazii non-hematologice)
- fără afectarea stării generale la prezentare
- fără mucită
- fără comorbidităţi
- recuperarea cifrei neutrofilice survine în maximum o săptămână
- hemoculturi şi uroculturi sterile
- radiografie toracică normală
- fără suspicine de infecţie de cateter

• **Pacienţii cu risc crescut** sunt aceia care vor avea neutropenie sub 500/mmc pe durate ce depăşesc 7 zile şi pacienţii cu neutropenie febrilă care asociază comorbidităţi active sau disfuncţie renală şi/sau hepatică, indiferent de durata neutropeniei.

Tabel **48** – Scor MASCC

Caracteristici	Punctaj
Neutropenie febrilă fără sau cu puţine simptome	5
Absenţa simptomelor (TA sistolică > 90 mm Hg)	5
Absenţa bolii pulmonare obstructive cronice	4
Tumori solide sau hemopatie fără infecţii fungice prealabile	4
Absenţa dezhidratărilor necesitând o perfuzie	3
Neutropenie febrilă cu simptome moderate	3
Pacient ambulatory	3
Vârsta < 60 ani	2
Total între 0 şi 26 (scorul este obţinut prin însumarea valorilor atribuite fiecărui factor de risc la evaluarea iniţială. Un scor depăşind 21 este asociat cu un risc scăzut de complicaţii severe)	

Pacienţii cu risc crescut sunt pacienţii cu cancer şi cel puţin una sau mai multe din următoarele:

- neoplazie hematologică
- chimioterapie mielosupresivă
- terapie combinată – chimio + radioterapie
- vârsta >60 ani
- co-morbidităţi precum diabet, status nutriţional deficitar
- infiltrare medulară de către cancer
- cicatrizare postoperatorie întarziată sau plăgi deschise
- mucite avansate
- stare generală alterată (ex. hipotensiv, oliguric)
- corticoterapie în curs, cu doze >25 mg prednisolon/zi
- scăderea rapidă a cifrei neutrofilice
- antecedente de neutropenie
- internări recente pentru episoade infecţioase
- de menţionat grupul pacienţilor cu neutropenie severă sub 100/mmc care survine la pacienţii cu grefă de celule stem şi la cei cu terapie de inducţie pentru leucemie acută.

O alternativă la utilizarea criteriilor clinice de mai sus o reprezintă utilizarea indicelui de risc MASCC (*Multinational Association for Supportive Care in Cancer*) care este validat ca instrument de evaluare a riscului de complicaţii în neutropenia febrilă (Tabel 48).

EVALUARE INIŢIALĂ

Evaluarea iniţială (în UPU sau la patul pacientului internat) - trebuie să se facă o anamneză atentă şi un examen clinic amănunţit:

- tipul de cancer şi tratamentul recent
- temperatură, puls, frecvenţă respiratorie, TA şi saturaţie a sângelui arterial în oxigen

- examen fizic amănunţit concentrat pe:
    - torace
    - mucoase
    - tegumente
    - căi de abord venos (catetere venoase, flexule…)
    - zonă perianală
    - tract urinar
    - tract gastro-intestinal

Atenţie, semnele de infecţie pot fi subtile sau absente la pacienţii neutropenici care nu prezintă deloc sau prea puţine semne inflamatorii.

- Pacienţii care au primit chimioterapie şi se prezintă cu febră de peste 38°C vor fi trataţi ca fiind neutropenici, cu excepţia cazurilor care au o hemogramă din ziua precedentă care arată contrariul.
- Pacienţii care prezintă semne noi de disfuncţie organică (status mental alterat, hipotensiune, hipoxie…) trebuie abordaţi ca având sepsis sever. Pacienţii cu şoc septic trebuie trataţi în terapie intensivă.
- Pacienţii care au mai puţin de trei luni de la transplantul de celule stem vor fi trataţi ca pacienţi neutropenici cu risc indiferent de numărătoare.

Investigaţiile recomandate la evaluarea iniţială

- Teste de laborator care includ:
    - hemograma completă cu frotiu de sânge periferic
    - măsurarea nivelului de uree şi creatinină, ionograma
    - testele de funcţie hepatică (transaminaze, bilirubină)
    - testele de coagulare (timp de protrombină, INR, aPTT)
    - testele inflamatorii (CRP, procalcitonina).
- Hemoculturi – cel puţin două seturi recoltate simultan pe căile unui cateter venos central (dacă este prezent) şi de pe o venă periferică; două seturi luate separate de pe o venă periferică în absenţa CVC.
    - Nu se perfuzează cateterul venos înainte de a recolta hemocultura şi se foloseşte primul prelevat din cateter!!!
- Culturi din alte situsuri suspectate de sepsis
    - urocultura – jetul mijlociu
    - prelevarea de spută
    - prelevarea de materii fecale, inclusiv pentru *Clostridium difficile* la cei cu diaree
    - prelevări din plăgi, situs recent de cateter venos central
- Radiografie toracică la cei cu manifestări respiratorii
- Puncţii lombare pentru examen LCR

PRINCIPII DE ÎNGRIJIRE A PACIENŢILOR CU NEUTROPENIE FEBRILĂ

• Pentru pacienţii cu risc înalt se va iniţia imediat hidratarea intravenoasă.

• Administrarea de antibiotic se va iniţia imediat după recoltarea de probe pentru culturi. Nu se va întârzia administrarea antibioticelor pentru aşteptarea rezultatelor de la culturi.

• Evaluarea semnelor vitale va fi facută la fiecare 4 ore cu consemnarea măsuratorilor şi raportarea schimbărilor care survin. Evaluarea semnelor vitale se va face mai frecvent dacă : temperatura > 38°C sau < 36°C, TAS < 90 mmHg sau o scădere de > 40mm Hg, FC > 90/min, rata respiratorie >20, saturaţia în oxigen < 90%; se vor documenta şi raporta schimbările.

• Administrarea de antitermice la indicaţia medicului - antitermicele pot masca febra.

• Spălarea mâinilor înainte de orice contact direct cu pacientul. Atenţie la personalul de îngrijire, să nu prezinte semne sau simptome de infecţii.

• Se vor examina şi îngriji mai întâi pacienţii neutropenici pentru evitarea contaminării încrucişate.

• Asigurarea unei igiene meticuloase a pielii, zonelor perineală şi orală.

• Evaluarea tegumentelor şi mucoaselor – examinare perineu la fiecare schimb, cu raportarea eventualelor modificări.

• Urmărirea locurilor de abord venos, standard sau cu dispozitive CVC la fiecare schimb, documentarea şi raportarea modificărilor.

• Nu se va administra medicaţie rectal, cu excepţia indicaţiilor exprese de către medic.

• Nu se vor insera catetere, cu excepţia celor indicate de medic. In caz de necesitate, se va menţine asepsia şi antisepsia.

• Nu se va permite menţinerea de plante vii sau flori în vase cu apă în camera neutropenicilor.

• Evitarea menţinerii în cameră a surselor de apă stagnantă, precum vasele cu apă, cănile, echipamentele pentru aerosoli şi respiraţie care trebuie schimbate zilnic.

• Urmărirea vizitatorilor pentru eventuale infecţii. Recomandări căte vizitatori pentru măsuri de curăţenie.

TERAPIA EMPIRICĂ INIŢIALĂ

Principii generale — Febra la un pacient neutropenic trebuie considerată o urgenţă medicală. Antibioterapia cu spectru larg trebuie iniţiată cât mai repede posibil, în maxim 60 de minute de la constatare, şi în doze complete ajustate la funcţia renală şi/sau hepatică. În plus, evaluarea diagnostică trebuie realizată rapid.

Scopul terapiei empirice este acela de a acoperi cât mai mult posibil patogenii virulenţi care pot antrena rapid infecţii severe sau cu risc vital la pacienţii neutropenici. Următoarele principii generale se aplică:

- antibioterapia este de obicei administrată empiric, dar trebuie să includă întotdeauna o acoperire a infecţiilor cunoscute sau suspectate. Chiar când agentul patogen este cunoscut, asocierea antibiotică trebuie să asigure o acoperire cu spectru larg pentru alţi posibili patogeni (care nu au fost identificaţi).

- La pacienţii cu risc înalt, antibioticele trebuie administrate IV, în mediu spitalicesc.
- Asocierea antibiotică iniţială trebuie să ţină seama de anamneza pacientului, de alergii, simptome, semne, antibioterapii recente şi de epidemiologia nozocomială a instituţiei.
- Ideal, antibioticele trebuie să fie bactericide.
- Răspunsul clinic, rezultatele la culturi trebuie monitorizate strâns, iar terapia trebuie ajustată la noile informaţii.
- Pacienţii cu neutropenie febrilă trebuie monitorizaţi frecvent din punct de vedere al semnelor vitale (TA, puls, frecvenţă respiratorie şi temperatură), al statusului performant (răsunetul clinic al sindromului febril neutropenic) şi al capacităţii de a ingera oral în prezenţa mucitei bucale şi gastrointestinale. Se va lua în considerare oprirea administrării chimioterapiei sistemice pe parcursul terapiei sindromului septic până la stabilizarea pacientului. Atenţie la echilibrul hidro-electrolitic, date fiind riscurile de dezhidratare datorită febrei, vărsăturilor şi/sau diareei. Trebuie menţinută o diureză orară de peste > 0.5 mL/kg.

Modificarea terapiei antibiotice — modificările aduse schemei de antibiotice în cursul unei neutropenii febrile trebuie să se bazeze pe anumite principii:

- schema terapeutică iniţială trebuie modificată pe baza unor date clinice şi microbiologice
- febra persistentă inexplicabilă la un pacient stabil, fără alte manifestări, nu necesită, adesea, o ajustare empirică a regimului antibiotic iniţial. Totuşi, dacă este identificat un germene, ajustarea trebuie facută corespunzător
- infecţiile documentate (clinic şi/sau micobiologic) trebuie tratate cu antibiotice corespunzătoare localizării sau antibiogramei germenului izolat
- dacă la schema iniţială se asociază Vancomicină sau alt anti-gram pozitiv, acesta poate fi oprit în 48-72 ore dacă nu nunt argumente pentru o astfel de infecţie. Suprautilizarea Vancomicinei a antrenat rezistenţe (ex. *Enterococcus spp* rezistent la Vancomicină)
- la pacienţii care sunt sau devin instabili hemodinamic, după primele doze din antibioterapia standard pentru neutropenii febrile trebuie lărgit spectrul anti-microbian pentru a acoperi şi germenii gram negativi rezistenţi, gram pozitivi şi anaerobi, ca şi fungi
- terapia empirică antifungică trebuie luată în considerare la pacienţii cu febră persistentă după 4-7 zile de antibioterapie cu spectru larg şi care nu au un focar infecţios evident
- ulceraţiile orale pot fi datorate virusului *Herpes simplex* sau *Candida spp*. Astfel, asocierea de Aciclovir şi/sau Fluconazol trebuie permisă în aceste cazuri
- la pacienţii cu diaree, dacă sunt semne, poate fi instituită terapia empirică anti-*Clostridium difficile* în aşteptarea rezultatelor la testări.

Asocierea unui tratament antifungic

Indicaţii — asocierea empirică a unui agent antifungic trebuie făcută după 4-7 zile la un neutropenic cu risc crescut a cărui neutropenie previzionată depăşeşte 7 zile şi care prezintă febră persistentă sau recurentă şi la care nu s-a identificat un focar infecţios. Motivaţia acestei

atitudini este dată de descoperirea de infecţii fungice nediagnosticate la mulţi dintre pacienţii care au murit în timpul unei neutropenii prelungite. Incidenţa unei infecţii fungice (în special cele cauzate de *Candida* sau *Aspergillus spp*) creşte când febra neutropenică persistă dincolo de 7 zile.

La pacienţii instabili clinic sau suspecţi de infecţie fungică, terapia anti-fungică trebuie iniţiată mai devreme.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVA

Williams Hematology by Kenneth Kaushansky, Marshall Al Lichtman, et al. Published by McGraw-Hill Professional; 9th Revised edition (2016)

Wintrobe's Clinical Hematology by Greer MD, John P. Published by Lippincott Williams & Wilkins ; 13th (thirteenth) edition (2013)

Hematology: Basic Principles and Practice, by Ronald Hoffman, Edward J. Benz Jr. et al Published by Churchill Livingstone; 6th edition (2013)

Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice by Victor J. Marder, William C. Aird, et al; Published by Lippincott Williams and Wilkins; 6th Revised edition (2012)

Oxford Handbook of Clinical Haematology by Drew Provan, Trevor Baglin, et al; Published by OUP Oxford; 4th edition (2015)

Hematologie 2ed. de Société française d'hématologie; Publié par Elsevier Masson; 2e édition (2014)

Hématologie Le livre de l'interne de Bruno Varet; Publié par Médecine Sciences Publications; 3e édition (2012)